

استخراج RNA از مایعات بدن با استفاده از نمازول (NamaZol)

استخراج RNA بهتر است بلافاصله بعد از جمع‌آوری نمونه انجام شود. در غیر این صورت نمونه‌ها بعد از جمع‌آوری تا زمان استخراج در دمای 70°C - یا نیتروژن مایع نگهداری شوند. در تهیه محلول‌ها حتماً از آب فاقد نوکلئاز (DEPC- treated water) استفاده نمایید.

1. 250 μl از نمونه را با 750 μl محلول نمازول مخلوط نمایید.
2. نمونه را به مدت 5 تا 15 دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.
3. 200 μl کلروفرم به هر نمونه اضافه کرده و مخلوط نمایید تا محلول یکنواختی بدست آید. سپس به مدت 2 تا 5 دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.
4. نمونه‌ها را به مدت 15 دقیقه و دور 12000rpm در دمای 4°C سانتریفیوژ نمایید.
5. فاز آبی را با دقت به یک لوله جدید منتقل کنید.
6. 500 μl ایزوپروپانول و 10-1 μl نوکلئیک اسید کریر به نمونه اضافه نمایید و چندین بار با سر و ته کردن مخلوط کنید. سپس 10 دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.
7. نمونه‌ها را به مدت 5 تا 10 دقیقه و دور 12000rpm در دمای 4°C سانتریفیوژ نمایید.
8. محلول رویی را دور ریخته و به هر نمونه 1ml اتانول ۷۵٪ اضافه کرده و به صورت مختصر ورتکس نمایید.
9. نمونه‌ها را به مدت 5 دقیقه و دور 8000rpm و دمای 4°C سانتریفیوژ نمایید.
10. محلول رویی را با دقت دور بریزید و میکروتیوب‌ها را به مدت 5 تا 10 دقیقه در دمای اتاق قرار دهید تا رسوب خشک شود.
11. رسوب را در 20-100 μl آب فاقد RNase حل نمایید. (برای حل شدن بهتر نمونه‌ها را 10 تا 15 دقیقه در دمای 55°C قرار دهید.) نمونه RNA را می‌توانید در دمای 70°C - نگهداری نمایید.