

استخراج RNA 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 شود. در تهیه محلول‌ها حتماً از آب فاقد نوکلئاز (DEPC- treated water) استفاده نمایید.

1. 750µl از محلول نمازول (NamaZol) را به نمونه اضافه کنید.
 - نمونه بافت (5-50µg) با استفاده از هموژنایزر لیز شود.
 - نمونه خون (250µl) با استفاده از سمپلر چندین بار مخلوط شود.
2. نمونه را به مدت ۵ تا ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.
3. 200µl کلروفرم به هر نمونه اضافه کرده و مخلوط نمایید تا محلول یکنواختی به دست آید. سپس به مدت ۲ تا ۵ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.
4. نمونه‌ها را به مدت ۱۵ دقیقه و دور 12000rpm در دمای 4°C سانتریفیوژ نمایید.
5. فاز آبی (بالایی) را با دقت به یک لوله جدید منتقل کنید.
6. 500µl ایزوپروپانول به نمونه اضافه نمایید و چندین بار با سر و ته کردن مخلوط کنید. سپس ۵ تا ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.
7. نمونه‌ها را به مدت ۱۰ 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 ۵ دقیقه و دور 8000rpm در دمای 4°C سانتریفیوژ نمایید.
10. محلول رویی را با دقت دور بریزید و میکروتیوب‌ها را به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید تا رسوب خشک شود.
11. رسوب را در 20-100µl آب فاقد RNase حل نمایید. (برای حل شدن بهتر نمونه‌ها را ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در دمای 55°C قرار دهید.)
نمونه RNA را می‌توانید در دمای -70°C نگهداری نمایید.