

如何防止 RNA 酶污染

在所有RNA实验中，最关键的因素是分离得到全长的RNA。而实验失败的主要原因是核糖核酸酶（RNA酶）的污染。由于RNA酶广泛存在而稳定，一般反应不需要辅助因子。因而RNA制剂中只要存在少量的RNA酶就会引起RNA在制备与分析过程中的降解，而所制备的RNA的纯度和完整性又可直接影响RNA分析的结果，所以RNA的制备与分析操作难度极大。

在实验中，一方面要严格控制外源性RNA酶的污染；另一方面要最大限度地抑制内源性的RNA酶。RNA酶可耐受多种处理而不被灭活，如煮沸、高压灭菌等。

外源性的RNA酶存在于操作人员的手汗、唾液等，也可存在于灰尘中。在其它分子生物学实验中使用的RNA酶也会造成污染。这些外源性的RNA酶可污染器械、玻璃制品、塑料制品、电泳槽、研究人员的手及各种试剂。而各种组织和细胞中则含有大量内源性的RNA酶。

一、防止RNA酶污染的措施

1. 所有的玻璃器皿均应在使用前于 180℃ 的高温下干烤 6hr 或更长时间。
2. 塑料器皿可用 0.1% DEPC 水浸泡或用氯仿冲洗（注意：有机玻璃器具因可被氯仿腐蚀，故不能使用）。
3. 有机玻璃的电泳槽等，可先用去污剂洗涤，双蒸水冲洗，乙醇干燥，再浸泡在 3% H₂O₂ 室温 10min，然后用 0.1% DEPC 水冲洗，晾干。
4. 配制的溶液应尽可能的用 0.1% DEPC，在 37℃ 处理 12hr 以上。然后用高压灭菌除去残留的 DEPC。不能高压灭菌的试剂，应当用 DEPC 处理过的无菌双蒸水配制，然后经 0.22 μm 滤膜过滤除菌。
5. 操作人员戴一次性口罩、帽子、手套，实验过程中手套要勤换。
6. 设置 RNA 操作专用实验室，所有器械等应为专用。

二、常用的RNA酶抑制剂

1. 焦磷酸二乙酯（DEPC）：是一种强烈但不彻底的RNA酶抑制剂。它通过和RNA酶的活性基团组氨酸的咪唑环结合使蛋白质变性，从而抑制酶的活性。

2. 异硫氰酸胍：目前被认为是最有效的RNA酶抑制剂，它在裂解组织的同时也使RNA酶失活。它既可破坏细胞结构使核酸从核蛋白中解离出来，又对RNA酶有强烈的变性作用。
3. 氧钒核糖核苷复合物：由氧化钒离子和核苷形成的复合物，它和RNA酶结合形成过渡态类物质，几乎能完全抑制RNA酶的活性。
4. RNA酶的蛋白抑制剂（RNasin）：从大鼠肝或人胎盘中提取得来的酸性糖蛋白。RNasin是RNA酶的一种非竞争性抑制剂，可以和多种RNA酶结合，使其失活。
5. 其它：SDS、尿素、硅藻土等对RNA酶也有一定抑制作用



上海闪晶分子生物科技有限公司

地址：上海市宜山路 705 号 B 座 18 楼

邮编：200233

联系：市场部

电话：64858053 800-988-1995

E-mail:master@shinegene.org.cn

网址：www.shinegene.org.cn

