

超纯 RNA 提取试剂盒

项目号: U670000

储存条件: 2-8℃, 避光。

产品内容

组分	50T	200T
TRIzol Reagent	60ml	2×110mL
TRIzol PaI™	10ml	2×20mL
Buffer RW1	40ml	160ml
Buffer RW2 (concentrate)	11ml	50ml
RNase-Free Water	10ml	50ml
Spin Columns RM with Collection Tubes	50	200
RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 mL)	50	200

产品简介

本试剂盒是基于 TRIzol 改进后的柱式总 RNA 提取试剂盒, 裂解液充分裂解并匀质化样本, 采用独特的硅基质膜吸附技术, 通过离心吸附柱在高盐状态下高效专一的结合溶液中的 RNA, 同时最大限度的有效除去蛋白质、无机盐离子及有机杂质等; 可从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中快速提取总 RNA, 每次可处理 30-50 mg 组织或 5×10^6 细胞, 可同时处理多个不同样品。本试剂盒提取得到的 RNA 可直接应用于 RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译等实验。

产品特点

- 纯度高: 最大限度除去蛋白质等杂质, 提取的 RNA 可直接用于下游各种实验。
- 提取量大: 独特的裂解液配方, 充分裂解细胞或组织, RNA 提取量多至 100 μ g。
- 快速: 步骤少, 操作简单, 节省时间。
- 兼容性强: 适用于多种动植物组织和细胞 RNA 的提取。

自备试剂: 70%乙醇(无 RNase 水配制)、无水乙醇。

实验前准备及重要注意事项

1. 预防 RNase 污染, 应注意以下几方面:

- 1) 使用无 RNase 的塑料制品和枪头, 避免交叉污染。
- 2) 玻璃器皿应在使用前于 180℃ 高温下干烤 4 小时, 塑料器皿可在 0.5M NaOH 中浸泡 10 分钟, 用水彻底冲洗后高压灭菌。
- 3) 配制溶液应使用无 RNase 的水。
- 4) 操作人员戴一次性口罩和手套, 实验过程中要勤换手套。

2. 样品应避免反复冻融，否则影响 RNA 提取得率和质量。
3. 使用前若发现 TRIzol Reagent 有沉淀，可置于 56°C 水浴几分钟，即可溶解。
4. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在 Buffer RW2 中加入无水乙醇。
5. 所有离心步骤若无特殊说明均在室温下进行，且所有操作步骤动作要迅速。
6. 若下游实验对 DNA 非常敏感，建议用不含 RNase 的 DNase I 对 RNA 进行处理。

使用方法

1. 样品处理

1a. 植物组织：取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在 TRIzol Reagent 中迅速研磨，每 30–50mg 组织加入 1mL TRIzol Reagent，混匀。

注意：样品体积不超过 TRIzol Reagent 体积的 10%。

1b. 动物组织：取新鲜或-70°C 冻存的动物组织尽量剪碎，每 30–50mg 组织加入 1mL TRIzol Reagent，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入 TRIzol Reagent 1mL 混匀。

注意：样品体积一般不要超过 TRIzol Reagent 体积的 10%。

1c. 单层培养细胞：吸去培养液，可直接在培养板中加入适量 TRIzol Reagent（每 10cm² 面积需要 1mL TRIzol Reagent），用取样器反复吹打使细胞裂解。也可用胰蛋白酶处理后，将细胞溶液转移至 RNase-Free 的离心管中，300×g 离心 5min，收集细胞沉淀，仔细吸除所有上清，加入 TRIzol Reagent 1mL 混匀。

注意：

1) 收集细胞数量不要超过 1×10⁷。

2) TRIzol Reagent 加量根据培养板面积决定，不是由细胞数决定。如果 TRIzol Reagent 加量不足，可能导致提取的 RNA 中有 DNA 污染。

3) 收集细胞时一定要将细胞培养液去除干净，否则会导致裂解不完全，造成 RNA 的产量降低。

3) 收集细胞时一定要将细胞培养液去除干净，否则会导致裂解不完全，造成 RNA 的产量降低。

1d. 细胞悬液：离心收集细胞。每 5×10⁶–1×10⁷ 动物、植物和酵母细胞或每 10⁷ 细菌细胞加入 1mL TRIzol Reagent。

注意：

1) 加入 TRIzol Reagent 前不要洗涤细胞，以免 RNA 降解。

2) 一些酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪或液氮研磨处理。

1e. 血液处理：直接取新鲜的血液，加入 3 倍体积的 TRIzol Reagent（推荐 0.25mL 全血加入 0.75mL TRIzol Reagent），充分振荡混匀。

1f. 可选步骤：对于蛋白、脂肪、多糖或胞外物质含量高的样品，如肌肉组织、脂肪组织或植物的块茎，可以在匀浆处理后 4°C，12,000 rpm (~13,400×g) 离心 10 分钟以除去不溶物质，此时沉淀中含胞外物质、多糖和高分子量的 DNA，而 RNA 存在于上清中。

2. 样品中加入 TRIzol Reagent 后反复吹打几次，使样本充分裂解。室温放置 5 分钟，使蛋白核酸复合物完全分离。

3. 每 1mL TRIzol Reagent 加入 200 μL TRIzol PaI™，盖好管盖，剧烈振荡 15 秒，室温放置 2 分钟。

4. 4°C 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 10 分钟，此时样品分为三层：红色有机相，中间层和上层无色水相，RNA 主要在上层水相中，将上层水相移到一个新的 RNase-Free 离心管（自备）中。

5. 在得到的水相溶液中加入等体积的 70%乙醇（无 RNase 水配制），颠倒混匀。

6. 将上步所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns RM）中。若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm 离心 20 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入 700 μL Buffer RW1，12,000 rpm 离心 20 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

8. 向吸附柱中加入 500 μL Buffer RW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 20 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

9. 重复步骤 8。

10. 12,000 rpm 离心 2 分钟，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟，彻底晾干。

注意：这一步目的是将吸附柱中残余乙醇去除，乙醇残留会影响后续酶促反应（酶切、PCR 等）。

11. 将吸附柱置于一个新的无 RNase 离心管中，向吸附柱的中间部位加入 30–50 μ L RNase-Free Water，室温放置 1 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟，收集 RNA 溶液， -70°C 保存 RNA，防止降解。

注意：

- 1) RNase-Free Water 体积不应小于 30 μ L，体积过小影响回收率。
- 2) 如果要提高 RNA 的产量，可用 30–50 μ L 新的 RNase-Free Water 重复步骤 11。
- 3) 如果要提高 RNA 浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤 11。