

RNA 提取试剂

(TRIZOL)

产品编号	试剂名称	规格	保存条件
FRN-01	RNA 提取试剂 (TRIZOL)	100 mL	4 °C
	RNA 溶解液	10 mL	4 °C
	说明书	1 份	

一、运输与存储。

本产品常温运输，4 °C 保存，有效期 2 年。

二、注意事项（实验前阅读）。

1. 蛋白、多糖或脂类含量较高的组织，裂解后可能存在沉淀或油状漂浮物，可以 12,000×g，4 °C 离心 10 min 除去沉淀或其它杂物，上清转入新的离心管，再加入氯仿，进行后续实验。
2. 转移上层水相时若吸入中间层或下层液体，则导致 DNA 或蛋白污染，降低 RNA 纯度。
3. 若细胞数量较少（少于 1×10^5 ）或组织块较小（小于 10 mg）时，RNA 总量较少，沉淀不易观察，可以使用本公司的增强型 RNA 提取试剂盒（Cat: FRN-02, TRIZOL Plus）来提取。
4. 检测 RNA 时，260 nm、320 nm、230 nm 和 280 nm 处吸光度值的分别代表了核酸、背景（溶液浑浊度）、盐浓度和蛋白质等物质的吸光度值。OD260/OD280 (R) 体现了 RNA 的纯度，质量较好的 RNA 的 R 值应该在 2.0~2.2 之间。当 $R < 2.0$ 时，RNA 溶液中可能存在 DNA 污染；当 $R < 1.8$ 时，RNA 溶液中可能存在蛋白质污染；当 $R > 2.2$ 时，说明有的 RNA 已经被降解成了单核苷酸。
5. 利用琼脂糖凝胶检测 RNA 时，高质量的总 RNA 具有以下特征：电泳条带清晰，无拖尾、模糊现象；28 S 亮度明显大于 18S，比值接近或超过 2:1；5 S 条带亮度较弱或不可见。
6. 本试剂具有腐蚀性与刺激性，使用时请穿好实验服、佩戴乳胶手套和安全眼镜，避免试剂飞溅导致的皮肤、眼睛或者呼吸道等部位的化学灼伤。如果不慎接触皮肤或者眼睛，请立即用大量水冲洗，必要时去医院护理。

三、产品简介。

RNA 提取试剂 (TRIZOL) 是一款基于 TRIZOL 试剂设计的 RNA 提取试剂, 通过酚/氯仿抽提, 可以高效的提取细胞、细菌、血液、动、植物组织的 RNA, 用于反转录和 Northern blot 等生物学实验。

四、特点与优势。

1. 适用于多种 (细胞、细菌、血液、动物组织和植物组织等) 类型生物样品的 RNA 提取。
2. 可以快速获得高纯度的 RNA。

五、自备试剂与耗材。

氯仿 (三氯甲烷), 异丙醇, 75%乙醇, RNase-free EP 管 (1.5 mL) 和枪尖。

六、使用说明。

1. 细胞或组织裂解。
 - 1) 细胞裂解。
 - a) 贴壁细胞裂解。6 孔板培养细胞, 弃培养液, 预冷的 PBS 洗涤一次, 加入 1 mL RNA 提取试剂 (TRIZOL), 吹打混匀, 转移到 1.5 mL EP 管中, 室温静置 3-5 min。
 - b) 悬浮细胞裂解。离心收集悬浮细胞, 按照 $5-10 \times 10^6$ 个细胞需要 1 mL RNA 提取试剂 (TRIZOL) 的比例加入试剂, 混匀, 室温静置 3-5 min。
 - 2) 组织裂解。称取 50 mg 组织, 置于 EP 管中, 加入 1 mL RNA 提取试剂 (TRIZOL), 利用手持式电动匀浆仪进行匀浆处理, 室温静置 3-5 min。
2. 加入 200 μ L 氯仿, 颠倒混匀 20 次 (不建议剧烈震荡, 即 **vortex**, 以免增加 DNA 污染), 室温静置 5 min。
3. 12,000 rpm (约 $14\,000 \times g$), 4°C , 离心 10 min, 样品分为三层, RNA 集中在上层的无色水相中, DNA 集中在中间层, 而蛋白集中在下层的淡紫红色液相中。
4. 转移上层水相至新的 EP 管 (不要吸到中间层的白色物质, 否则出现 DNA 污染。大概能够吸取 400 μ L 左右的上清, 无法吸取的上清可以舍弃), 加入等体积的异丙醇, 颠倒混匀 10-20 次。
5. 12,000 rpm (约 $14\,000 \times g$), 4°C 离心 10 min, 可以在管底或管壁上看到白色凝胶状的 RNA 沉淀 (点状, 或细条装沉淀), 弃上清液。 (如果没有看到沉淀, 可以延长离心时间到 20 min)
6. 加入 1 mL 75% 的乙醇, 轻微震荡 15 sec, 洗涤 RNA 沉淀。
7. 12,000 rpm (约 $14\,000 \times g$), 4°C 离心 5 min, RNA 沉淀到管底, 弃上清。
8. 瞬时高速离心 (如 12 000 rpm, 10 sec), 使管壁上的液体离心到管底, 利用微量移液器吸尽残液。
9. 加入 100-200 μ L RNA 溶解液或 RNase-free ddH₂O, 溶解 RNA。
10. 测定 RNA 浓度与纯度, 用于反转录或其它实验, 或保存于 -80°C 冰箱

七、提取 RNA 鉴定。

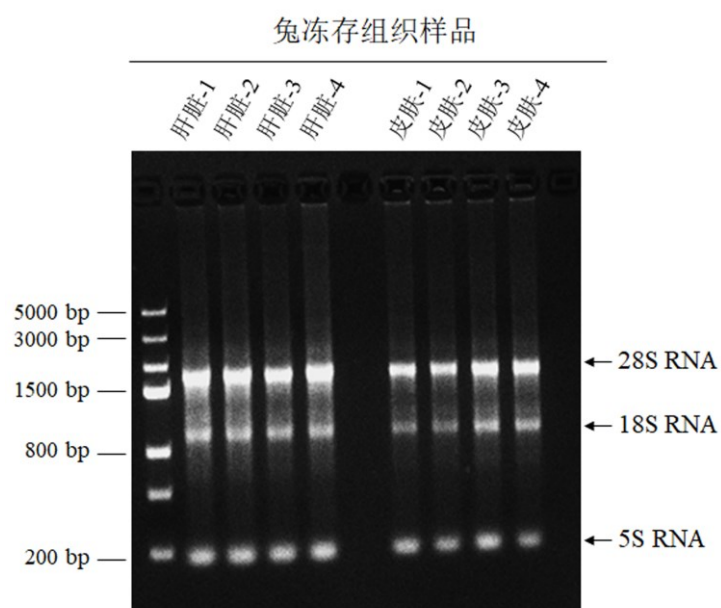


图 1. 组织 RNA 提取与鉴定。

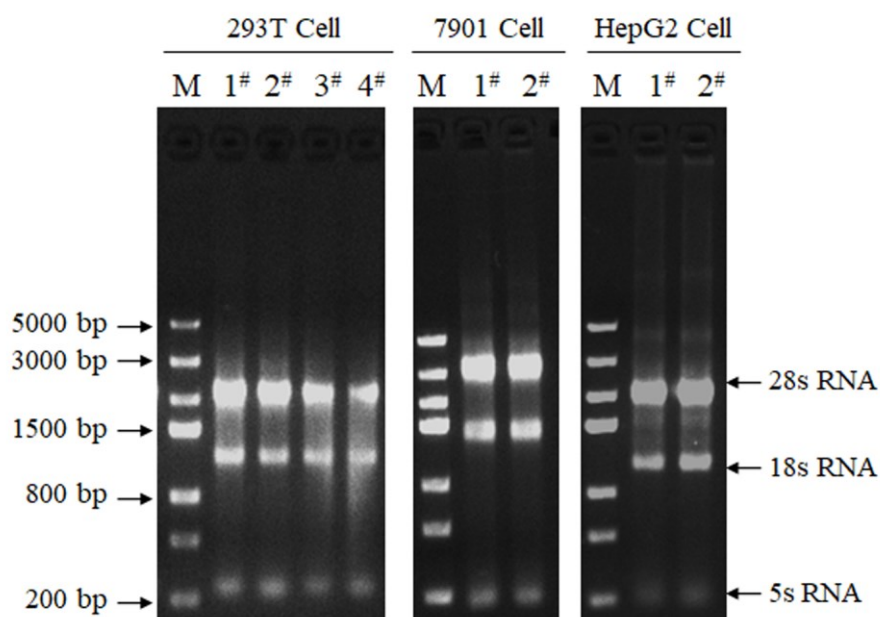


图 2. 细胞 RNA 提取与鉴定。

八、常见问题与分析。

问题	可能原因	解决方案
RNA 降解	样品反复冻融或保存不当	尽量使用新鲜的组织或细胞样品。
	耗材存在 RNA 酶污染。	选择使用 RNase-free 的耗材。
	没有在低温环境下操作。	请在冰上或冰水混合物中提取 RNA。
	细胞消化过度。	收集细胞时缩短胰酶消化时间。
	保存条件不当。	提取的 RNA 尽快保存在 -80 °C，而不是 -20 °C。
RNA 浓度低	样品较少。	增加样品量。
	裂解不充分。	样品中加入 RNA 提取试剂后，充分混匀，室温静置 5 min。
基因组 DNA 污染	样品量过大。	按照说明书内样品量要求，减少样品用量。
	转移上层水相时，吸入中间层白色沉淀。	减少吸取上层液相，不吸入中间层白色沉淀。