

增强型 RNA 提取试剂盒

TRIZOL Plus

产品编号	产品组成	规格	保存条件
FRN-03	RNA 提取试剂 (TRIZOL)	50 mL	4 °C
	Elution Buffer R (洗脱液)	10 mL	4 °C
	RNA purification column (RNA 纯化柱)	50 套	RT
	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 1 年。

二、注意事项 (实验前阅读)。

1. 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。
2. 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 RNA 已经被降解成了单核苷酸。
3. 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 RNA 条带亮度应明显大于 18 s RNA 条带亮度，比值接近或超过 2:1，5 s RNA 条带亮度较弱或不可见。
4. 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。

本产品是一款将 TRIZOL 和 RNA 纯化柱结合形成的 RNA 提取试剂盒,可以借助 TRIZOL 的裂解能力, RNA 纯化柱高效吸附效果, 提取高质量的 RNA, 尤其适用于微量样品中的 RNA 提取。

四、特点与优势。

- 1) 解决了 TRIZOL 提取 RNA 过程中 RNA 沉淀不易看见的问题, 便于微量样品中 RNA 的提取。
- 2) RNA 纯化柱的引入, 优化了实验流程, 节省了您宝贵的实验时间。
- 3) 提取 RNA 的完整性和纯度优于 TRIZOL 试剂。
- 4) 广泛用于组织、细胞、细菌等多种样品中的 RNA 提取, 在**微量样品或复杂样品 (如纤维组织和脂肪组织)**中 RNA 的提取方面极具优势。
- 5) **提取血液样品中 RNA 的效果显著优于其他试剂, 是一款血样 RNA 提取神器。**

五、自备试剂与耗材。

75%乙醇, 异丙醇, 氯仿, RNase-free EP 管 (1.5 ml) 和枪尖。

六、使用说明。

1. 样品裂解。
 - 1) 细胞裂解。细胞沉淀中加入 1 mL RNA 提取试剂 (TRIZOL 型), 混匀, 室温静置 3-5 min。
 - 2) 组织裂解。称取 10 mg 组织, 置于 EP 管中, 加入 1 mL RNA 提取试剂 (TRIZOL 型), 利用手持式电动匀浆仪进行匀浆处理, 室温静置 3-5 min。
 - 3) 血液样品裂解。吸取 0.5 ml 血样, 置于 2 ml 的离心管中, 加入 1 ml 的 TRIZOL 试剂, 混匀, 室温静置 3-5 min。
2. 加入混合溶液体积 1/5 的氯仿 (组织或细胞的混合液加入 200 μ L, 血样样品混合液加入 300 μ l), 颠倒混匀 20 次 (**不建议剧烈震荡, 即 vortex 混匀, 以免增加 DNA 污染**)。
3. 12,000 rpm (约 14 000 \times g), 4 $^{\circ}$ 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 (**部分上清无法有效吸取, 可以舍弃, 以免吸取中间的白色层, 导致基因组 DNA 污染**), 加入等体积的异丙醇, 颠倒混匀 10-20 次。
5. 取 600 μ L 混合液加入 RNA 纯化柱中, 12,000 rpm (约 14 000 \times g), 4 $^{\circ}$ C 离心 30 sec, 弃滤液。
6. 将剩余的混合液加入对应的 RNA 纯化柱中, 12,000 rpm (约 14 000 \times g), 4 $^{\circ}$ C 离心 30 sec, 弃滤液。
7. 向 RNA 纯化柱中加入 500 μ l 的 75%乙醇, 12,000 rpm (约 14 000 \times g), 4 $^{\circ}$ C 离心 30 sec, 弃滤液。
8. 12,000 rpm (约 14 000 \times g), 4 $^{\circ}$ C 离心 1 min, 弃滤液。

9. 将 RNA 纯化柱插入新的 RNase-free EP 管中, 向纯化柱中央滴加 50-100 μ l Elution Buffer R (洗脱液) 或 RNase-free ddH₂O, 室温静置 2 min。
10. 12,000 rpm (约 14 000 $\times g$), 4 $^{\circ}$ C 离心 1 min, 得到 RNA 溶液。
11. 立即用于反转录实验, 或保存于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱。

七、提取 RNA 鉴定。

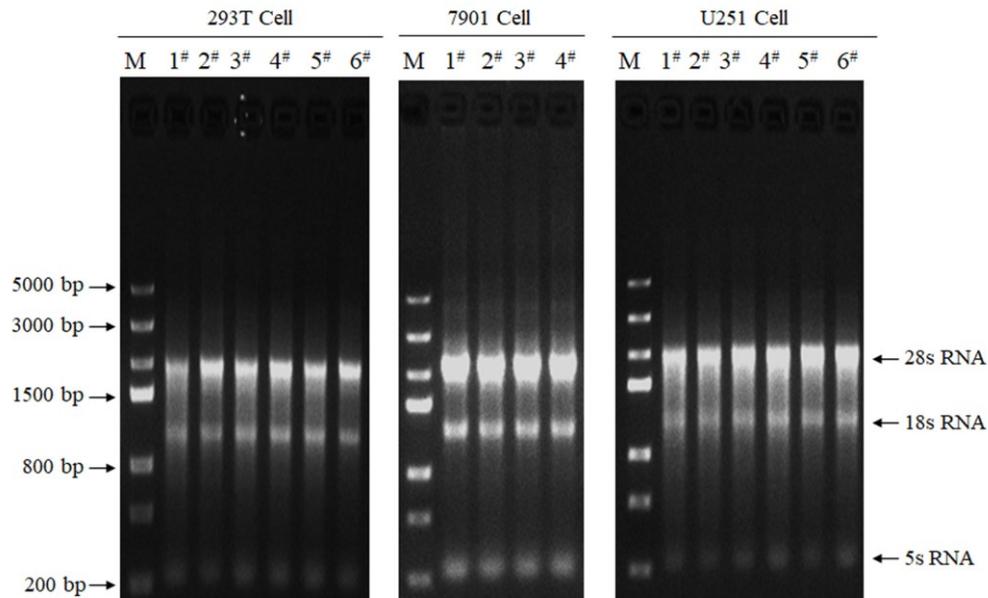


图 1. 琼脂糖凝胶电泳检测提取的 RNA。

八、常见问题与分析。

问题	可能原因	解决方案
提取的 RNA 降解	样品反复冻融或保存不当	尽量使用新鲜的样品, 避免反复冻融。
	耗材存在 RNA 酶污染。	选择使用 RNase-free 的耗材, 或将耗材进行 RNase 清除处理。
	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。
	RNA 洗脱液含有 RNase	选择使用 RNase-free 的洗脱液或 ddH ₂ O。
	保存条件不当。	提取的 RNA 尽快保存在 -80 $^{\circ}$ C, 而不是 -20 $^{\circ}$ C。
提取的 RNA 浓度低	样品量过低。	增加样品量。
	洗脱体积偏大。	减少洗脱液体积。
	洗脱液孵育时间偏短	洗脱液加入 RNA 纯化柱后, 室温放置 3-5 min。
	试剂盒过期	使用保质期内的产品
提取的 RNA 中出现基因组 DNA 污染	转移上层水相时, 吸入中间层白色沉淀。	减少吸取上层液相, 不要吸入中间层白色沉淀。