AipPure TRIzol LS 总 RNA 抽提试剂(液体样本)

AipPure TRIzol LS Total RNA Extraction Reagent(Liquid Sample)

使 用 说 明 书

◆**目录号：RE202**

◆**试剂盒组成：**

试剂盒组成	RE202-01	RE202-02
TRIzol LS(4℃避光)	50mL	100mL

◆**储存事项：**AipPure TRIzol LS Reagent 在室温下能稳定保存 12 个月。尽管如此，为达到最佳效果，我们建议保存在 2~8°C 的环境下，2~8°C 能稳定保存 24 个月。

◆**重要提示：**本品中含有苯酚，具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会导致中毒、灼伤以及其他身体伤害。使用本制品时应穿戴防护物品(如防护服装、手套、眼罩、面罩等)。如果不小心接触，应立即用大量的清水冲洗，严重的请立即前往医院治疗。

◆**产品介绍：**

1. TRIzol LS 试剂是直接从来源于人、动植物、酵母、细菌和病毒的液体样品中提取总 RNA 的试剂。也可以从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中提取总 RNA。 该方法对少量的组织(50-100mg)和细胞(5×10^6)以及大量的组织(≥1g)和细胞(>10^7)均有较好的分离效果。样品在 TRIzol LS 中被充分裂解的同时能够最大限度地保证 RNA 的完整性。在加入氯仿离心后，溶液会分成三层：上层无色水相、中间层和下层有机相，RNA 分布在上清层中。收集上清层后，经异丙醇沉淀便可以回收得到总 RNA。提取的总 RNA 完整性好，无蛋白和 DNA 污染，可用于各种分子生物学常规实验，如 RT-PCR、qRT-PCR、Northern-Blot、Dot-Blot、体外翻译等。
2. TRIzol LS 试剂能促进不同种属不同分子量大小的多种 RNA 的析出。例如，从大鼠肝脏抽提的 RNA 琼脂糖凝胶电泳并用溴化乙啶染色，可见许多介于 7kb 和 15 kb 之间不连续的高分子量条带(mRNA 和 hnRNA 成分)，两条优势核糖体~5 kb(28S)和~2 kb(18S)，低分子量 RNA 介于 0.1 和 0.3 kb 之间(tRNA，5S)。当抽提的 RNA 用 TE 稀释时其 A260/A280 比值≥1.8。

   注：如果是普通琼脂糖凝胶电泳，28S 的位置大约在 2kb，18S 大约在 1kb 的位置，

不同浓度的凝胶位置变化较大。

◆注意事项：

1. 样品用 TRIzol LS 匀浆后，如果不即刻加入氯仿之前，置于-70°C 下可放置一个月以上。保存在 75%乙醇中的 RNA 沉淀，2-8°C 可以保存一周，-20°C 条件下可以保存 1 年。RNA 半衰期比较短，容易降解，建议提取后尽快进行后续实验，如反转录成 cDNA，Northern Blot 等。
2. 若下游实验对 DNA 非常敏感，建议用 RNase-free DNase I(货号：M328)对 RNA 进行处理。
3. 自备试剂：氯仿、异丙醇(新开封或提取 RNA 专用)、75%乙醇(用 DEPC 处理过的水配制)、 RNase-free Water 或者 DEPC 处理过的水。
4. 本公司生产 AipPure TRIzol LS Reagent 质量优异，可以完美替代 Invitrogen 的 TRIzol LS Reagent。提取质量和下游实验完全一样。

◆RNA 抽提操作步骤(实验前请先阅读注意事项)：

提示：用 TRIzol LS 抽提 RNA 时要戴手套和护眼罩。避免接触皮肤和衣服。在化学通风橱完成操作。避免呼吸道吸入。如无特殊说明，所有的操作应该在 15~30°C 的室温条件下。

1. 匀浆
   1) **生物液体：**每 0.25mL 液体样品(血清，血浆，脑脊液等等)加入 0.75mL TRIzol LS，用加样枪吹打液体样品几次以帮助裂解样品中细胞。每 5~10×10^6 个细胞至少加入 0.75mL TRIzol LS。TRIzol LS 和液体样品的终体积比总是 3：1。
   2) **动物组织：**用 Glass 或强力匀浆器搅匀组织样品，每 50~100mg 组织或者 0.25mL 组织悬液加 0.75mL 的 TRIzol LS。一般 50~100mg 组织体积都要小于 0.25mL，如果组织样品的体积小于 0.25mL，加入灭菌水将组织样品体积调整到 0.25mL 以保证体积比例是 3：1。
   3) **单层生长细胞：**直接往直径 3.5 cm 的培养板中加入 0.3mL-0.4mL 的 TRIzol LS 裂解细胞，用加样枪吹打帮助充分裂解细胞。依据培养板的面积而不是依据细胞的数量来决定所需的 TRIzol LS 量(每 10cm^2 加 0.3-0.4mL)。不需要往裂解物里面加水，因为培养板中附着残留的培养液已经充分稀释了 TRIzol LS。
      注：贴壁培养细胞往往不能完全从培养瓶(皿)脱落，这并不意味着裂解不完全，此时细胞膜实际已经完全破裂开，并已释放出 RNA，继续做即可。
   4) **细胞悬液：**通过离心来沉淀细胞。在 TRIzol LS 试剂中用移液管反复吹打来裂解细胞。每 5~10×10^6 的动物细胞，植物或酵母菌细胞或每 1×10^7 细菌加 0.75mL 的 TRIzol LS。和步骤 b 一样用灭菌水调节样品体积到 0.25mL 以保证体

积比例是 3：1。在加入 TRIzol LS 前应避免洗涤细胞，因为那样会增加 mRNA 降解的可能性。破裂某些酵母菌和细菌可能需要使用匀浆器。

5) **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 LS 中迅速研磨，每 50-100mg 组织加入 0.75mL TRIzol LS，和步骤 b 一样用灭菌水调节样品体积到 0.25mL 以保证体积比例是 3：1，混匀。

2. 将匀浆样品剧烈震荡后在室温条件下放置 5 分钟以使核蛋白体完全解离。
3. **可选步骤：** 在 4°C 的条件下以 12,000 rpm 的离心力离心 10 分钟，取上清。

   注：如样品中含有较多蛋白质，脂肪，多糖或肌肉，植物的块茎结节等可离心去除。离心后的沉淀中包含有细胞外膜，多糖，以及高分子量 DNA，上清中含有 RNA。处理脂肪组织的样品时，上层是大量油脂应除去。取澄清的匀浆液进行下一步。
4. 每 0.75mL TRIzol LS 加 0.2mL 氯仿。盖紧管盖，剧烈震荡 15 秒并将其在室温下放置 2~3 分钟。
5. 在 4°C 12,000 rpm 的离心力高速冷冻离心 10-15 分钟。离心后混合物分成三层：下层有机苯酚氯仿层，中间层，上层无色的水样层。RNA 无一例外地存在于水样层当中。水样层的容量大约为所加 TRIzol LS 容量的 70%。

   注：有机层和中间层是蛋白和 DNA，如果需要提取，请联系我们索取提取方法。
6. 将水样层转移到一干净的离心管中，加入等体积异丙醇，颠倒混匀后室温放置 10 分钟。

   注：RNA 沉淀在离心前通常不可见，离心后在管侧和管底形成胶状沉淀。
7. 在室温或者 4°C 12,000 rpm 离心 10 分钟，弃上清。
8. 加入 75%乙醇洗涤沉淀。每使用 0.75mL TRIzol LS 用 1mL 75%乙醇对沉淀进行洗涤。
9. 在室温或者 4°C 12,000 rpm 离心 3 分钟，弃上清，注意不要丢失 RNA 沉淀。

   注：剩余的少量液体可短暂离心，然后用枪头吸出，注意不要吸弃沉淀。
10. 室温放置 2-3 分钟，晾干。加入 30-100μL RNase-free 水，充分溶解 RNA，得到的 RNA 保存在-70℃，防止降解。

    注：沉淀不要过分干燥，以免难于溶解。

==========

扫码关注我们