

TRleasy™ Total RNA Extraction Reagent

TRleasy™ 总 RNA 提取试剂

产品简介

TRleasy™ Total RNA Extraction Reagent 是一种适用于各种动植物、细菌组织、细胞的总 RNA 抽提试剂，具有极强的裂解能力，可在短时间内裂解细胞和组织样本，并有效抑制样本中 RNA 的降解，保持 RNA 的完整性。样品在该试剂中能够充分裂解，之后加入氯仿离心分层，形成上清层、中间层和有机层（鲜红色下层），RNA 分布在上层水相中，收集上清层后，经异丙醇沉淀便可得到总 RNA。提取的总 RNA 纯度高，基本不含蛋白质及基因组 DNA，可直接用于 Northern、点杂交、mRNA 纯化、体外翻译、RT-PCR、poly(A)+选择、RNA 酶保护分析以及构建 cDNA 文库等多种分子生物学实验。

此外，样品中的 DNA 和蛋白也能以沉淀的方式还原。乙醇沉淀能析出中间层的 DNA，而在有机层中加入异丙醇能沉淀出蛋白。本品操作简单快速，所有操作可在一小时内完成。对少量的组织 (50-100 mg) 和细胞 (5×10^6) 以及大量的组织 (≥ 1 g) 和细胞 ($>10^7$) 均有较好的裂解效果。

产品信息

货号	10606ES60
规格	100 mL

储存条件

2~8°C 避光保存，有效期 1 年。

使用说明

表 1 每毫升 Total RNA Extraction Reagent 能够充分裂解的最大样本量

样本类型	样本使用量
贴壁细胞	10 cm ² 培养面积
悬浮动植物细胞或酵母细胞	5×10^6 - 1×10^7 个
细菌	10^7 个
动物组织	50-100 mg
植物组织 (多糖和多酚含量不高的)	50-100 mg

【注】：过多的样本量可能会导致裂解不充分，并使产物纯度降低。

操作流程

1. 样品的处理

1) 样品匀浆

A. 贴壁细胞

弃去培养液，直接往直径 3.5 cm 的培养板中加入 1 mL Total RNA Extraction Reagent，覆盖并反复吹打裂解细胞。

【注】：1. 依据培养板的面积而不是细胞的数量来决定 Total RNA Extraction Reagent 的所需量（每 10 cm² 加 1 mL）。

2. 加入 Total RNA Extraction Reagent 量不足时，会导致 DNA 污染。

3. 贴壁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，细胞膜实际已完全裂开，并释放 RNA，继续后续实验即可。

B. 悬浮细胞

离心收集细胞沉淀，每 5×10^6 – 1×10^7 个细胞加入 1 mL Total RNA Extraction Reagent，用移液器反复吹打。

【注】：加入 Total RNA Extraction Reagent 前应避免洗涤细胞，否则会增加 mRNA 降解的可能性。裂解某些酵母和细菌可能需要使用匀浆器。

C. 动、植物组织

取-70°C冻存动物组织在液氮中充分研磨，按照表 1 加入适当量 Total RNA Extraction Reagent 混匀。或取新鲜动植物组织尽量剪碎，加入适当量 Total RNA Extraction Reagent，匀浆仪进行匀浆处理。

【注】：样品体积不要超过加入 Total RNA Extraction Reagent 体积的 10%。

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) 4°C，12000g 离心 10 min，取上清。

【注】：离心可去除样品中较多蛋白质、脂肪、多糖或肌肉，植物的块茎结节等。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。处理脂肪组织样品时，上层是大量油脂应尽量去除，取澄清的匀浆液进行后续实验。

2 总 RNA 提取

1) 向上述裂解液中加入 1/5 体积氯仿（如每 1 mL Total RNA Extraction Reagent 加入 0.2 mL 氯仿）。盖紧离心管盖，剧烈震荡 15 sec，室温静置 2–3 min。

2) 4°C，12000g 离心 10–15 min。

【注】：1. 离心后混合物可分 3 层：上层无色水样层，中间层，下层红色有机苯酚氯仿层。RNA 存在于水样层中。

2. 上层容量约为所加 Total RNA Extraction Reagent 总量的 50–60%。如加入 1 mL Total RNA Extraction Reagent，上层水相约为 500–600 μ L。建议吸取 400–500 μ L，以防吸到中间层造成 DNA 污染。

3. 有机相和中间层是蛋白和 DNA，可用于后续抽提。

3) 小心吸取上层水相至新离心管中，加入 1/2 体积异丙醇（如每 1 mL Total RNA Extraction Reagent 加入 0.5 mL 异丙醇）。颠倒混匀后室温放置 10 min。

4) 4°C，12000g 离心 10 min。

【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。

5) 小心弃去上清，加入等体积 75%乙醇（DEPC 水配制，如每 1 mL Total RNA Extraction Reagent 加入 1 mL 75%乙醇）。涡旋充分洗涤，并轻弹管底，让沉淀悬浮起来。

6) 4°C，7500g 离心 5 min，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，注意不要吸到沉淀。

7) 室温放置空气干燥 5–10 min。加入 30–100 μ L 无 RNase 水溶解 RNA，待完全溶解后，取少量检测，其余溶液-70°C保存。

【注】：RNA 沉淀不能彻底干燥，过分干燥会导致 RNA 溶解度降低。

注意事项

1. 本产品中含有苯酚，具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会引起中毒、灼伤及其他身体伤害。使用时应穿戴防护物，如防护服装、手套、眼罩、面罩等。如果不小心接触到眼睛时，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。

2. 请穿实验服并佩戴一次性手套操作，避免 RNase 污染。

3. 需自备氯仿、异丙醇（新开封或提取 RNA 专用）、75%乙醇（DEPC 处理水配制）、DEPC 和 DEPC 处理水。

4. 样品用 Total RNA Extraction Reagent 匀浆后，如果不加入氯仿进行下游实验，可先-70°C冻存，可保存一个月以上。

5. RNA 沉淀在 75%乙醇中，4°C可保存 1 周，-20°C可保存 1 年。

6. RNA 半衰期比较短，易降解，建议抽提后尽快进行后续实验。

7. 本产品仅作科研用途！