

TRleasy™ Total RNA Extraction Reagent (TCM Free)

TRleasy™ 总 RNA 提取试剂（免氯仿）

产品简介

TRleasy™ Total RNA Extraction Reagent (TCM Free) 是传统 Trizol 的免氯仿升级版，广泛适用于从各类动物组织、植物材料、培养细胞、细菌等样品中提取 Total RNA 和 Small RNA。与传统 Trizol 提取方法相比，本产品不需要使用氯仿进行分层，操作更简单，且全程可在常温进行。

本产品提取的 RNA 基本不残留 DNA，提取的 RNA 可以直接用于 cDNA 克隆、qRT-PCR 检测、mRNA 纯化、体外翻译、Northern、点杂交、高通量测序等各种分子生物学实验。

产品信息

货号	19202ES60
规格	100 mL

组分信息

组分名称	19202ES60
TRleasy™ Total RNA Extraction Reagent (TCM Free)	100 mL

储存条件

2~8°C 保存，有效期 1 年。

使用说明

1. 样本处理

1) 样本匀浆

- 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 Total RNA Extraction Reagent 中迅速研磨，每 25~50 mg 组织加入 0.5 mL Total RNA Extraction Reagent，混匀。
- 动物组织：取新鲜或 -70° C 冻存动物组织尽量剪碎，每 15~50 mg 组织加入 0.5 mL Total RNA Extraction Reagent，匀浆仪进行匀浆处理，或在液氮中研磨后加入 0.5 mL Total RNA Extraction Reagent 混匀。
- 培养细胞：尽量去除干净残留培养液后直接往直径 3.5 cm 的培养板中加入 0.5 mL Total RNA Extraction Reagent 覆盖并反复吹打裂解细胞。

【注】：1. 根据培养板的面积加 Total RNA Extraction Reagent（每 10 cm² 加 0.5 mL）。

2. 当 Total RNA Extraction Reagent 量不足时可能导致抽提的 RNA 中有 DNA 污染。

3. 贴壁细胞不能完全脱落时，并不是裂解不完全，此时细胞膜已经完全破裂，并释放 RNA，继续实验即可。

- 细胞悬液：离心收集细胞，在 Total RNA Extraction Reagent 试剂中用移液管反复吹打来裂解细胞。每 1~5×10⁶ 的动物细胞，植物细胞或每 5×10⁶ 细菌加 0.5 mL Total RNA Extraction Reagent。

【注】：在加入 Total RNA Extraction Reagent 前应避免洗涤细胞，易造成 mRNA 降解。破裂某些细菌可能需要使用匀浆器。

- e. 液体样本：每 200 μL （低于 200 μL 时，可用 RNase-free H_2O 补足）血浆、血清等液体样本，加入 0.5 mL Total RNA Extraction Reagent 后振荡混匀。

2. 总 RNA 提取

- 1) 向上述裂解液中加入 2/5 体积的 RNase free 水(每 500 μL Total RNA Extraction Reagent 加 200 μL 水)，剧烈振荡混匀，室温静置 5 min。

【注】：当处理样本量大于 50 mg 时，可延长室温静置时间至 10~15 min。

- 2) 室温 12000rpm 离心 15 min。

- 3) 离心后溶液分成上层水相(含 RNA)和下层沉淀(含蛋白质、DNA、多糖等杂质)，小心吸取上层水相至新离心管中。

【注】：1. 上层水相体积约为总体积的 90%，如使用 500 μL Total RNA Extraction Reagent 进行提取，上层水相约为 630 μL 左右，建议吸取 500 μL ，以免吸到中间层造成污染；提取微量样本时，为减少损失可转移全部上清。

2. 当样本量较小时，离心后可能不会出现下层沉淀，属于正常现象，可继续按后续步骤完成提取。

- 4) 加入等体积异丙醇，颠倒混匀，室温静置 10 min。

- 5) 室温 12000rpm 离心 10 min。通常出现白色沉淀，小心弃去上清。

【注】：RNA 沉淀在离心前通常不可见，离心后在管侧壁和管底形成薄片状沉淀（样品量少的情况下，RNA 沉淀散在管侧壁，管底可能未见明显沉淀）。部分组织材料由于含有较多的代谢产物，导致沉淀不能聚集而分散在离心管壁上，请沿液面小心缓慢吸取弃上清。

- 6) 加入 1 mL 75%乙醇(RNase free 水配制)漂洗，涡旋震荡 15 sec，让沉淀悬浮起来，并上下颠倒数次。

- 7) 室温 12000rpm 离心 3 min，小心弃上清。

- 8) 重复步骤 6 和 7 漂洗一遍，小心弃上清。

【注】：为减少杂质残留，应尽可能的弃尽上清，只保留管底及管侧壁的白色 RNA 沉淀。

- 9) 室温晾干约 1 min，加入适量约 50~100 μL RNase free 水溶解沉淀，轻弹离心管底，让水充分接触管底和管侧壁的沉淀帮助溶解 RNA（可用移液器反复吹打管底和管侧壁的沉淀帮助溶解），使 RNA 沉淀充分溶解。提取的 RNA 产物可以分装后在 -80 $^{\circ}\text{C}$ 长期保存，短期保存放置 -25~-15 $^{\circ}\text{C}$ 。

【注】：1. 稍稍晾干 RNA 沉淀即可，过度干燥会导致 RNA 溶解度降低。

2. 从某些样本提取 RNA 时，RNA 沉淀并非完全聚集在离心管管底，而是也以均匀的薄雾状沉淀吸附在管侧壁上。

请注意仔细观察，并用移液器吹打管底和沉淀所在的管侧壁充分溶解所有的 RNA。

注意事项

1. 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。使用本产品时应穿戴防护物品，如防护服、手套、眼罩、面罩等。如果不小心接触，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口罩操作，避免 RNase 污染。
3. 需自备异丙醇（新开封或提取 RNA 专用）、75%乙醇(RNase free 水配制)、RNase free 水或者 DEPC 处理水。
4. 本产品仅作科研用途！