

Total RNA Isolation Reagent

总 RNA 提取试剂

产品编号	产品名称	规格
BS258A	总 RNA 提取试剂	100 ml

产品简介:

本产品经典配方的基础上进行升级,用于细胞或组织总 RNA 抽提的试剂。TRI Reagent 能很好提取动物细胞或组织及细菌的总 RNA,但对植物组织 RNA 的提取有选择性。模式植物(拟南芥,小麦,烟草,玉米,大豆)能提取较好的 RNA。一些多糖多酚含量高的植物(西红柿,银杏,梧桐,毛白杨,棉花等)叶片使用 TRI Reagent 不能提取 RNA。

TRI Reagent 可以抽提长达 15 kb 的 RNA,也可以抽提 microRNA 等小 RNA,抽提小 RNA 时宜-70℃沉淀过夜。

TRI Reagent 抽提所得 RNA 无 DNA 和蛋白污染。每一百万细胞约可得 5-15µg RNA;每毫克组织约可得 1-10µg RNA,产量因细胞和组织不同而异。

TRI Reagent 抽提所得 RNA 可直接用于 Northern, 点杂交, 纯化 mRNA, 体外翻译, RNase protein assay, cDNA 克隆以及 RT-PCR, 也可用于基因表达芯片分析, 高通量测序等对 RNA 质量较高的情况。

使用方法:

1、细胞裂解或组织匀浆。

(1) 贴壁细胞: 吸尽培养液, 每 10cm² 细胞加入 1ml TRI Reagent。一般 6 孔板每孔加 1ml, 12 孔板每孔加 0.5ml, 晃动 3-5 下, 再用枪吹打 2-3 下, 确保全部裂解, 然后吸至离心管中。

(2) 悬浮细胞: 离心收集细胞, 吸尽液体, 每五百万至一千万动植物或酵母细胞或一千万细菌, 加入 1ml TRI Reagent。用枪吹打或适当 vortex, 确保全部裂解。某些酵母和细菌如裂解不充分, 可用匀浆器匀浆, 确保全部裂解。

(3) 组织

1) 植物组织: 植物叶片直接放入研钵中, 加入少量液氮, 迅速研磨成粉末, 每 50-100mg 植物叶片加入 1ml TRI Reagent。

注: 经典模式植物如拟南芥、烟草、小麦、玉米等植物叶片能很好地提取 RNA; 但一些多糖多酚植物, 如西红柿、棉花、毛白杨等, 不能使用 TRI Reagent 提取 RNA。

2) 动物组织: 按 10-30mg 组织加入 1ml TRI Reagent, 用电动匀浆器或者一次性研磨杵充分匀浆。

2、对于某些蛋白，多糖或脂含量很高的细胞或组织，TRI Reagent 裂解后可能会有不溶物或油脂状漂浮物。需 12,000g，4℃离心 10 分钟，然后吸取澄清的裂解产物至一新的离心管中。

3、室温放置 5 分钟，使样品充分裂解。

4、每毫升 TRI Reagent 加 0.2ml 氯仿，vortex 混匀或猛烈晃动 15 秒，室温放置 2-3 分钟。

5、12,000g，4℃离心 15 分钟，然后吸取含总 RNA 的上层无色水相至一新的离心管中，每毫升 TRI Reagent 约可吸取 0.5-0.55ml。

6、加入与上清等体积的冰冷异丙醇，颠倒数次混匀，室温沉淀 10 分钟。如果希望提取 microRNA 等小 RNA，推荐-70℃沉淀过夜。

7、12,000g，4℃离心 10 分钟，在管底可见 RNA 沉淀，弃上清。

8、每毫升最初的 TRI Reagent 加入 1ml 75%乙醇（DEPC 水配制），vortex 或颠倒混匀，

9、7,500g 4℃离心 5 分钟，弃上清。再用离心机甩一下（>5,000rpm，离心 1 秒），小心吸尽液体。

10、待 RNA 晾干后，加入 20-50 ul DEPC 水溶解，-70℃冻存。注意：切勿让 RNA 过分干燥，否则将极难溶解，且测出的 A260/280 值会低于 1.6。

注意事项：

1、需自备氯仿，异丙醇，DEPC 水，75%乙醇（DEPC 水配制）。

2、所有离心管，枪头及相关溶液都必须无 RNA 酶污染。耐高温器物可 150℃烘烤 4 小时以去除 RNA 酶，其它器物去除 RNA 酶可考虑用 0.01%的 DEPC 水浸泡过夜，然后灭菌，烘干。溶液需用 DEPC 水配制。

3、使用冻存的细胞或组织抽提总 RNA 的效果通常比新鲜的细胞或组织差一些。因为在细胞或组织冻融过程中一些细胞或组织内的 RNase 会被释放出来并剪切样品。如果不能及时抽提 RNA，推荐先加入适量 TRI Reagent，并裂解样品后冻存。

4、必须戴一次性手套操作，且尽量不要对着 RNA 样品说话，以防 RNA 酶污染。

5、TRI Reagent 含有毒物质苯酚，避免接触皮肤或吸入。为防止溅入眼睛，请戴防护眼镜或使用透明保护屏。如皮肤接触 TRI Reagent，请立即用大量去垢剂和水冲洗，如仍有不适，请听取医生意见。

6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

保存方法：

4℃保存，一年有效。