

CAT#: GZ012008-50



RNA-miRNA 双提试剂

使用手册 V1.0

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

产品及特点

RNA-miRNA 双提试剂是传统 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 blotting 杂交、高通量测序等各种分子生物学实验。

重要提示：

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，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。

成分规格

成分	GZ012008-50
Tri-Reagent (4°C 避光)	50ml

保存条件

Tri-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。

使用方法

自备试剂

异丙醇(新开封或提取 RNA 专用)、75%乙醇(用 RNase free H₂O 配制)、RNase free H₂O 或者 DEPC-H₂O。

RNA 抽提操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

提示：用 Tri-Reagent 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. 样本处理：

- a. 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

Tri-Reagent 中迅速研磨，每 25-50 mg 组织加入 0.5 ml Tri-Reagent，混匀。

b. 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 Tri-Reagent，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入 0.5 ml Tri-Reagent 混匀。

c. 单层培养细胞：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 0.5ml Tri-Reagent 覆盖并反复吹打裂解细胞。依据培养板的面积而不是依据细胞的数量来决定所需的 Tri-Reagent 量（每 10 cm² 加 0.5 ml）。当 Tri-Reagent 量不足时可导致抽提的 RNA 中污染有 DNA。

（注意：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，并已释放出全部 RNA，继续做即可。）

d. 细胞悬液：离心收集细胞。在 Tri-Reagent 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 Tri-Reagent。在加入 Tri-Reagent 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 H₂O 补足）血浆、血清等液体样本，加入 0.5ml Tri-Reagent 后振荡混匀。

2. 向上述裂解液中加入 2/5 体积的 RNase-free H₂O(每 500 μl Tri-Reagent 加 200 μl 水)，剧烈振荡混匀，室温静置 5 min。

（注意：当处理样本量较大 50 mg 左右时，可延长室温静置时间到 10 - 15 min。）

3. 室温 12,000 rpm 离心 15 min。

4. 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一个新的离心管中。

（注意：上层水相约占总体积的 90%，如用 500 μl Tri-Reagent 进行提取，上层水相约为 630 μl，建议吸取 500 μl；提取微量样本时，为减少 RNA 损失，可以全部转移上清。）

（注意：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。）

5. 加入等体积异丙醇，颠倒混匀，室温静置 10 min。

6. 室温 12,000 rpm 离心 10 min。通常可以看见白色沉淀，小心弃去上清。

（注意：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（样品量少的情況下，RNA 沉淀散在管侧壁和管底有可能看不到明显沉淀）。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，此时，请沿液面缓慢吸取上清。）

7. 加入 1 ml 75%乙醇(RNase-free ddH₂O 配制)漂洗, 涡旋震荡 15 sec, 让沉淀悬浮起来, 并上下颠倒数次。

8. 室温 12,000 rpm 离心 3 min, 小心弃上清。

9. 重复步骤 7 和 8 漂洗一遍, 小心弃尽上清。

(注意: 为减少杂质残留, 应尽可能的将上清弃干净。建议弃去大部分上清后, 短暂点甩离心将残留液体甩至管底, 用 200 μ l 吸头吸尽残留的液体, 保留管底及管侧壁的白色 RNA 沉淀。)

10. 室温晾干约 1 min, 加入适量约 50 -100 μ l RNase-free ddH₂O 溶解沉淀, 室温涡旋 3 min, (或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 -85 ~ -65°C 长期保存, 在 -30 ~ -15°C 仅可短期保存。一般稍稍晾干 RNA 即可, 过度干燥会导致 RNA 难于溶解。

(注意: 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:

- RNA 最重要的指标就是没有降解完整性高, 目前普通的分光光度计包括 Nanodrop 等是无法通过测量 OD_{260/280} 和 OD_{260/230} 来确认 RNA 是否降解的。判断 RNA 是否降解可以通过跑 1%琼脂糖电泳检测, 通过直接观察 28S:18S 比值来判断是否降解, 或者用采用安捷伦 Bioanalyzer2100 仪器检测, 测定 RNA 产物的 RIN 值。
- Tri-Reagent 与传统 Trizol 一样属于通用型总 RNA 提取试剂, 具有和 Trizol 类似的适用范围。绝大部分常规动物组织细胞(如: 肝脏、肾脏、脑组织、培养细胞)、简单植物组织(如水稻、玉米、拟南芥、烟草、小麦等)都有良好效果。但是对于多糖多酚植物如棉花, 某些难破壁的细菌等样品不适用。

关联产品

产品编号	产品名称
GZ070101-500	GeneRed 核酸染料
GZ070102-500	Geneblue 核酸染料
GZ080501	RNAlocker 非冻型血液 RNA 保存液
GZ080502	RNAlocker 非冻型组织 RNA 保存液
GZ0733140	RNA 高灵敏度测定试剂盒
GZ0123070-100	总 RNA 提取试剂 (TRIzol)
GZ020101-1	2×Taq PCR MasterMix (含染料)
GZ020701-1	2 × Probe qPCR Mix
GZ020801-1	2×SYBR qPCR Mix
GZ020302-50	cDNA 第一链合成试剂盒 (去除基因组)
GZ020303-50	一管式 cDNA 第一链合成试剂盒 (去除基因组)



关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯