

说明书

液体样本 RNA 提取试剂 TRezol LS Reagent



产品介绍

本试剂是一种完整的即用型试剂，针对从多种液体样本中分离高质量总 RNA 或同时分离 RNA、DNA 和蛋白进行了优化。该苯酚和异硫氰酸胍单相溶液通常可在一小时内从人、动物、植物、酵母菌、细菌和病毒来源的液体样本中分离 RNA、DNA 和蛋白的单独组分。本试剂可处理多种液体样本（样本量多达 0.25 mL）。相较于普通款 trezol，本品可处理较大的样本。其配方可进行多次分离，可连续沉淀单份样本中的 RNA、DNA 和蛋白。样品在 TRezol 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、中间层和下层红色有机相，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、Real-time RT-PCR、Northern blot、Dot Blot、翻译等。



特点

- 具有出色的裂解能力；一份样品同时提取 RNA、DNA 和蛋白质。
- 其配方适用于液体样本，如血清或病毒制剂。即使是难以处理的生物液体，依旧拥有出色的裂解能力。
- 维持 RNA 的完整性，从多种样本体积和来源获得可靠的纯化 RNA。
- 产品稳定性高、易保存、保质期长。
- 性价比高、高效性、操作简单快捷。



储存事项

可在室温下运输。长期存放建议保存在 2~8°C 的避光通风环境下。有效期 3 年。



注意事项

- ⚠ 本试剂用于处理液体样本（例如血液和病毒样本），切勿将未稀释的本品与固体样品一起使用，处理固体样品会导致产率降低。
- ⚠ 收集样本后立即进行 RNA 提取或收集后立即快速冷冻样本，并在 -80°C 或液氮中储存直至 RNA 提取。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。
- ⚠ 若下游实验对 DNA 非常敏感，建议用 RNase free DNase I 对 RNA 进行处理。
- ⚠ 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。
- ⚠ 使用独立包装的一次性无菌塑料器皿和不含 RNA 酶的一次性无菌移液器、移液器吸头和离心管。
- ⚠ 如果起始材料含有高水平的 RNase（RNA 酶），如脾或胰腺样本，请在操作过程中注意保持低温，并先冷藏本试剂。



操作步骤

*提示：用 TRezol 抽提 RNA 时要戴手套和防护罩。避免接触皮肤和衣服。在化学通风橱完成操作。避免呼吸道感染。如无特殊说明，所有的操作应该在 15~30°C 的室温条件下。

1. 样本准备

收集样本后立即进行 RNA 提取或收集后立即快速冷冻样本，并在 -80°C 或液氮中储存直至 RNA 提取。每 0.75 mL TRIzol LS 试剂使用的起始材料生物液体 0.25 mL，细胞数量 7×10^7 个细胞，如样本中含有高浓度污染物质（例如全血）的生物液体应用无 RNA 酶的水进行 1:1 稀释。本试剂与样品的体积比始终保持为 3:1。为了便于从少量样本（ $<10^6$ 个细胞或 $<10\text{ mg}$ 的组织）中分离 RNA，或对于 $<0.25\text{ mL}$ 的样本体积，需使用不含 RNA 酶的水将样本体积调整为 0.25 mL。

2. 裂解样本和分相

- 1) 向每 0.25 mL 体积样品中加入 0.75 mL TRIzol LS 试剂。
- 2) 使用移液枪反复吹吸样品几次使样品匀浆化。注：匀浆后的样本可以在 4°C 下过夜保存或在 -20°C 下保存最长一年。
- 3) (可选) 如果样本的脂肪含量较高，请在 4°C 至 10°C 下 12000rpm 离心 5 分钟，然后将透明的上清液转移至新管中。
- 4) 孵育 5 分钟以使核蛋白复合物完全解离。
- 5) 每 0.75 mL 用于裂解的 TRIzol LS 试剂中添加 0.2 mL 氯仿，盖紧试管盖子，然后通过摇动彻底混合。
- 6) 孵育 2-3 分钟。
- 7) 在 4°C 下 12,000rpm 离心 15 分钟。混合物分离成下层的红色苯酚 - 氯仿层、中间层和无色的上层水相。
- 8) 将含有 RNA 的水相转移至新离心管中。
- 9) 将新离心管倾斜 45° ，将移液头中的含有 RNA 的水相液体打出。注意！避免在吸取水相时吸到中间层和有机相。

(以下步骤可根据自身实验要求，直接选择相应实验操作，如只需提取 RNA，只参照提取 RNA 步骤即可)

A. 提取 RNA

(1) 沉淀 RNA

- 1) 每 0.75 mL TRIzol LS 试剂向水相中加入 0.5 mL 异丙醇。
- 2) 孵育 10 分钟。
- 3) 在 4°C 下 12,000rpm 离心 10 分钟。总 RNA 在试管底部形成白色凝胶状沉淀。
- 4) 使用移液器弃去上清液。

(2) 洗涤 RNA

- 1) 每 0.75 mL TRIzol LS 试剂用 1 mL 75%乙醇重悬沉淀。注：RNA 保存在 75%乙醇中， -20°C 下可以保存至少 1 年，在 4°C 下可以保存至少 1 周。
- 2) 短暂涡旋样本，然后在 4°C 下 7500rpm 离心 5 分钟。
- 3) 使用移液器弃去上清液。
- 4) 将 RNA 沉淀真空干燥或室温晾干 5~10 分钟。注意！切勿用真空离心机干燥沉淀使 RNA 沉淀干燥，以确保 RNA 的完全溶解。部分溶解的 RNA 样本的 A230/280 比值 <1.6 。



(3) 溶解 RNA

- 1) 用 20-50 μL 不含 RNA 酶的水, 0.1 mM EDTA 或 0.5% SDS 溶液通过反复吹吸将沉淀重新悬浮。注意! 如果 RNA 会在随后的酶促反应中使用, 则切勿将 RNA 溶解在 0.5% SDS 溶液中。
- 2) 在 55-60°C 的水浴或加热块中孵育 10~15 分钟。继续下游应用, 或在 -70°C 下保存 RNA。

(4) 测定 RNA (分光光度法、检测试剂盒、荧光等)**B. 提取 DNA****(1) 沉淀 DNA**

- 1) 移除覆盖在中间层的任何剩余水相, 这对提取的 DNA 的质量至关重要。
- 2) 每 0.75 mL TRezol LS 试剂添加 0.3 mL 100%乙醇。
- 3) 盖上离心管, 多次颠倒离心管以混合样本。
- 4) 孵育 2~3 分钟。
- 5) 在 4°C 下 2000rpm 离心 5 分钟以沉淀 DNA。
- 6) 将苯酚-乙醇上清液转移至新离心管中。上清液用于蛋白质提取, 且含有蛋白质的上清液可以在 -70°C 下保存数月。

(2) 洗涤 DNA

- 1) 每 0.75 mL TRezol LS 试剂, 用 1 mL 含 0.1 M 柠檬酸钠溶液 (pH 8.5) 的 10%乙醇重悬沉淀。
- 2) 孵育 30 分钟, 偶尔轻轻颠倒以混合样本。注: DNA 可以在柠檬酸钠/乙醇中储存至少 2 小时。
- 3) 在 4°C 下 2000rpm 离心 5 分钟。
- 4) 使用移液器弃去上清液。
- 5) 重复步骤 (2) 1) ——步骤 (2) 4) 一次。注: 如果 DNA 质量 > 200 μg , 重复步骤 (2) 1) ——步骤 (2) 4) 两次。
- 6) 每 0.75 mL TRezol LS 试剂, 用 1.5 mL-2 mL 75%乙醇重悬沉淀。
- 7) 孵育 10~20 分钟, 偶尔轻轻颠倒以混合样本。注: DNA 可在 4°C 的 75%乙醇中储存数月。
- 8) 在 4°C 下 2000rpm 离心 5 分钟。使用移液器弃去上清液。
- 9) 将 DNA 沉淀真空干燥或室温晾干 5~10 分钟。注意! 切勿用真空离心机干燥沉淀。

(3) 溶解 DNA

- 1) 通过反复吹打将沉淀重悬于 0.3~0.6mL 的 8 mM 氢氧化钠中。注: 我们建议在温和碱性溶液中重悬 DNA, 因为提取的 DNA 在水或 Tris 缓冲液中不能很好地重悬。
- 2) 在 4°C 下 12,000rpm 离心 10 分钟以移除不溶性物质。
- 3) 将上清液转移至新离心管中, 然后根据需要用 HEPES 调整 pH 值。继续下游应用, 或在 4°C 下过夜保存 DNA。若需在 -20°C 下长期保存, 则需用 HEPES 将 pH 调节至 7-8 并添加 1 mM EDTA。

(4) 测定 DNA 产量。(分光光度法、检测试剂盒、荧光等)

C. 提取蛋白质

(1) 沉淀蛋白质

- 1) 每 0.75 mL TRezol LS 试剂, 将 1.5 mL 异丙醇添加到苯酚-乙醇上清液中。
- 2) 孵育 10 分钟。
- 3) 在 4°C 下 12,000rpm 离心 10 分钟以沉淀蛋白质。
- 4) 使用移液器弃去上清液

(2) 清洗蛋白质。

- 1) 制备含 0.3 M 盐酸胍的 95%乙醇组成的清洗液。
- 2) 每 0.75 mL TRezol LS 试剂, 用 2 mL 清洗液重悬沉淀。
- 3) 孵育 20 分钟。注: 在清洗液中, 蛋白质在 4°C 条件下可保存至少 1 个月, 或在-20°C条件下可保存至少 1 年。
- 4) 在 4°C 下 7500rpm 离心 5 分钟。
- 5) 使用移液器弃去上清液。
- 6) 重复步骤 (2) 2) ——步骤 (2) 5) 两次。
- 7) 加入 2 毫升 100%乙醇, 然后短暂涡旋混匀。
- 8) 孵育 20 分钟。
- 9) 在 4°C 下 7500rpm 离心 5 分钟。
- 10) 使用移液器弃去上清液。
- 11) 将蛋白质沉淀在室温条件下静置干燥 5 ~ 10 分钟。注意! 切勿用真空离心机干燥沉淀。

(3) 溶解蛋白质

- 1) 通过反复吹打将沉淀重悬于 200 μ L 的 1% SDS 溶液中。注: 为确保沉淀完全重悬, 我们建议您将样本在 50°C 水浴锅或加热块中孵育。
- 2) 在 4°C 下 10,000rpm 离心 10 分钟以移除不溶性物质。
- 3) 将上清液转移至新离心管中。直接继续下游应用, 或在-20°C 下保存样本。

(4) 确定蛋白质产率, 通过 Bradford 检测测定蛋白质浓度。注: SDS 浓度须<0.1%。



重要提示

产品用途: 仅供研究使用, 不适用于人或动物的体外诊断与治疗。

由于实验受多种因素影响具有不确定性, 本说明书操作说明仅供参考, 最终解释权归本公司所有。

警告! 产品对人体危害性未知, 请遵循操作说明。穿戴适当的防护眼镜、衣服和手套!

