

## TRIeasy™ LS Total RNA Extraction Reagent

## 液体总 RNA 提取试剂（同 TRIzol LS）

## 产品信息

产品名称	产品编号	规格
TRIeasy™ LS Total RNA Extraction Reagent 液体总 RNA 提取试剂（同 TRIzol LS）	19201ES60	100 mL

## 产品描述

TRIeasy™ LS Total RNA Extraction Reagent 是一种适用于各种动植物、酵母、细菌等液体样本的总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，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。

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( $5 \times 10^6$ )以及大量的组织( $\geq 1$  g)和细胞( $> 10^7$ )均有较好的裂解效果。

## 运输和保存方法

冰袋运输。4℃避光保存，有效期一年。

## 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、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处理水。
4. 样品用LS Total RNA Extraction Reagent匀浆后，如果不加入氯仿进行下游实验，可先-70℃冻存，可保存一个月以上。
5. RNA沉淀在75%乙醇中，4℃可保存1周，-20℃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. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
8. 本产品仅作科研用途！

## 操作流程

## 一、样品处理

## 1) 样品匀浆

## A. 生物液体（血清，血浆，脑脊液等）

按照3:1体积比添加LS Total RNA Extraction Reagent，即每0.25 mL液体样品加入0.75 mL LS Total RNA Extraction Reagent，反复吹打裂解细胞。

## B. 细胞悬液（或细菌、酵母菌悬液）

离心收集细胞沉淀（无需洗涤处理），添加灭菌ddH<sub>2</sub>O重悬细胞，重悬密度为 $2 \times 10^7$ - $4 \times 10^7$ 个细胞/mL。取0.25 mL细胞悬液，加入0.75 mL LS Total RNA Extraction Reagent，反复吹打裂解细胞。

**【注】**：加入LS 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. 贴壁细胞

弃去培养液，直接往直径3.5 cm的培养板中加入0.4 mL LS Total RNA Extraction Reagent，覆盖并反复吹打裂解细胞。

**【注】**：1. 依据培养板的面积决定LS Total RNA Extraction Reagent的所需量（每10 cm<sup>2</sup>加0.4 mL）。添加不足会导致DNA污染。

2. 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。

### D. 动、植物组织

1) 取50~100 mg动物组织匀浆处理，或取50~100 mg新鲜植物组织尽量剪碎，用灭菌ddH<sub>2</sub>O补足至0.25 mL，之后加入0.75 mL LS Total RNA Extraction Reagent混匀。

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，12000 rpm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。

## 二、总RNA提取

1) 向上述裂解液中加入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，12000 rpm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，下层有机苯酚氯仿层。RNA存在于水样层中。

2. 上层容量约为所加LS Total RNA Extraction Reagent总量的60-70%。如加入0.75 mL LS Total RNA Extraction Reagent，上层水相约为525 μL。**建议**吸取510 μL，以防吸到中间层造成DNA污染。

3) 小心吸取上层水相至新离心管中，加入等体积异丙醇。颠倒混匀后室温放置10 min。

4) 4°C，12000 rpm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，12000 rpm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 μL 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。

## 三、产物检测

### A. RNA完整性检测

1) 取1 μL RNA加入适当RNA loading buffer，混匀。

2) 进行电泳检测。若出现清晰的三条带，证明RNA完整性较好。

### B. RNA纯度检测

检测260 nm，280 nm OD值，并计算A260/A280比值。纯的RNA的比值应在2.0左右。