



RNA 提取试剂/Trigol

产品编号: NEP019-1/NEP019-2

产品规格: 50ml/100ml

产品简介:

Trigol 是鼎国开发的针对次生物质含量较少的植物组织和动物组织 RNA 提取产品, 具有更强的裂解能力, 并且能有效去除蛋白污染, 能够很好的保持 RNA 分子的完整性。

Trigol 可用于少量提取(30~100 mg), 又可用于大量(大于 500 mg)。所提取的 RNA 可直接用于 Northern blot、Dot blot、poyA 筛选和分子克隆等。

组成:

编号	成分	规格
NEP019-1	Trigol	50 ml
NEP019-2	Trigol	100 ml

实验前准备

- 1、 准备 RNase-free 枪头, 离心管。
- 2、 准备 RNase-free ddH₂O、TE buffer 或 0.5%SDS。
- 3、 使用 RNase-free ddH₂O 配制 75%无水乙醇。
- 4、 三氯甲烷, 异丙醇。

储存条件:

4℃避光保存。

步骤:

材料处理:

- 液氮研磨, 将组织直接放入研钵中, 加入液氮, 迅速研磨。按 30~100 mg 组织/ml Trigol 加入 Trigol, 转入离心管进行第 2 步操作。
- 匀浆: 组织样品按 30~100 mg/ml Trigol 加入 Trigol, 另外, 组织体积不能超过 Trigol 体积的 10%, 否则匀浆效果会不好, 用电动匀浆器充分匀浆约需 1~2 min。

操作步骤:

1. 细胞或组织加 Trigol 后, 室温放置 5~10 min, 使其充分裂解。

注: 此时可放入-70℃长期保持。

2. 12000 rpm 离心 5 min, 弃沉淀。
3. 按 200 μl 氯仿/ml Trigol 加入氯仿, 振荡混匀, 室温放置 15 min。

1) 禁用漩涡振荡器, 以免基因组 DNA 断裂。

2) 样品若蛋白含量较高, 可重复抽提一次。



4. 4℃ 12000 rpm 离心 15 min。
5. 吸取上层水相，至另一离心管中。
千万不要吸取中间界面。
6. 加入吸入上清量的 0.7~1 倍体积的异丙醇，室温放置 10~30 min。
7. 4℃ 12000 rpm 离心 10 min，弃上清，RNA 沉于管底。
8. 按 1ml 75%乙醇/ml Trizol 加入 75%乙醇，温和振荡离心管，悬浮沉淀。
9. 4℃ 12000 rpm 离心 5 min，尽量弃上清。
10. 室温晾干或真空干燥 5~10 min。
RNA 样品不要过于干燥，否则很难溶解。
11. 可用 50 μ l ddH₂O、TE buffer 或 0.5%SDS 溶解 RNA 样品，放置 5 min。
ddH₂O、TE 或 0.5%SDS 均须用 DEPC 处理并高压。

提取效果检测：

提取后得到的产物可用琼脂糖凝胶电泳检测和紫外分光光度计检测浓度和纯度。

RNA 在 260nm 处有吸收峰，检测时应该使 OD₂₆₀ 值在 0.1 到 1.0 之间数值较准确。

核酸浓度 (μ g/ml) = OD₂₆₀ × 40 × 稀释倍数。

OD₂₆₀/OD₂₈₀ 的值应该为 1.7~2.0。

常见问题分析：

常见问题	可能原因	建议
RNA 降解	溶液、枪头和离心管未去除 RNase，或被 RNase 污染	溶液使用 RNase-free 水配制，枪头和离心管必须去除 RNase。操作过程中必须戴手套可口罩，防止 RNase 污染
	材料过多	材料量与 Trizol 量要在说明书范围内
	样品未保存在 -80℃	材料用完立即液氮速冻，保存于 -80℃
	材料取出后未立即处理或冷冻	材料取出后应立即处理
	电泳缓冲液 pH 过高	确保待测样品电泳时使用新鲜缓冲液
	蛋白污染	可用氯仿抽提时多抽提一次，吸液时勿将中间固相吸入
样品过少，浓度过低	加大样品用量	
RNA 提取量少	研磨不充分	研磨时要充分研磨
DNA 污染	样品中含有强碱性物质	适当加入 3mol/L 醋酸钠 (pH5.2, RNase-free)
	吸液时将中间层吸入	吸液时要小心，不要吸得过多，将中间层吸入
蛋白、多糖污染	材料中蛋白、多糖含量高	用氯仿多抽提一次
	洗液时将中间固相吸入	洗液时小心，勿将中间相吸入，若吸入，可用氯仿再抽提一次