

## 六、提取效果检测

- 1、DNA 提取后得到的产物可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测完整性、浓度和纯度。
- 2、DNA 在 260nm 处有吸收峰，OD260 为 1 时大概相当于 50  $\mu$ g/ml 双链 DNA，40  $\mu$ g/ml 单链 DNA。
- 3、核酸浓度 ( $\mu$ g/ml) = OD260  $\times$  50  $\times$  稀释倍数。
- 4、OD260/OD280 的值应该为 1.7 ~ 2.0。

## 七、常见问题分析及处理方法

- 1、RNA 降解。
  - 1) 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和口罩，防止 RNase 污染。
  - 2) 材料过多：材料量与 TRNAzol 量要在说明书范围内。
  - 3) 样品未保存在 -80 $^{\circ}$ C：材料用完立即液氮速冻，保存于 -80 $^{\circ}$ C。
  - 4) 材料取出后未立即处理或冷冻：材料取出后应立即处理。
  - 5) 电泳缓冲液 pH 过高：确保待测样品电泳时使用新鲜缓冲液。
  - 6) 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。
- 2、RNA 提取量少。
  - 1) 研磨不充分：研磨时要充分研磨。
  - 2) 样品过少，浓度过低：加大样品用量。
- 3、DNA 污染。
  - 1) 样品中含有强碱性物质：适当加入 3mol/L 醋酸钠 (pH5.2, RNase-free)。
  - 2) 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。
- 4、蛋白、多糖污染。
  - 1) 材料中蛋白、多糖含量高：用氯仿多抽提一次。
  - 2) 吸液时将中间固相吸入：吸液时小心，勿将中间相吸入，若吸入，可用氯仿再抽提一次。

# TRNAzol 总 RNA 提取裂解液

Cat #: GT1402-50ML/ GT1402-100ML

产品规格: 50ml/100ml

保存与运输: 4 $^{\circ}$ C

TRNAzol 是最新研发的 RNA 提取产品，含指示剂。可用于病毒、细菌、真菌、植物、动物组织以及动物细胞等的总 RNA 提取，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。

TRNAzol 可用于少量样品提取 (30~100mg)，又可用于大量样品提取 (大于 500mg)。所提取的 RNA 可直接用于 Northern blot、Dot blot、p10A 筛选和分子克隆等。

## 一、产品组成、储存

成分	规格	注意事项
TRNAzol	50ml/100ml	4 $^{\circ}$ C 避光保存 12 个月
说明书	1 份	

## 二、注意事项

- 1、TRNAzol 可有效防止 RNA 降解，但是在后续实验中，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 酶可用 0.5M NaOH 浸泡 10min 或用 0.01% 的 DEPC 水浸泡过夜，然后灭菌，烘干。其他所需试剂需用 DEPC 水配制。
- 2、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。如果不能及时抽提 RNA，推荐先加入适量 TRNAzol，裂解样品后冻存。
- 3、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

## 三、产品特点

- 1、含指示剂：本产品含指示剂，便于吸取上清，避免吸入下层。
- 2、简单快速：仅需简单的裂解、抽提，一小时左右可完成 RNA 提取。
- 3、完整性：TRNAzol 可有效抑制 RNase 活性，防止 RNA 降解，保持 RNA 完整性。

## 四、实验前试剂准备

- 1、RNase-free 枪头，离心管。
- 2、RNase-free ddH<sub>2</sub>O。
- 3、75% 乙醇（RNase-free ddH<sub>2</sub>O 配制）。
- 4、氯仿，异丙醇。

## 五、操作步骤

### 一) 材料处理：

- 1、植物组织：取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或剪碎后在 TRNAzol 中研磨，研磨过程要迅速。100mg 植物组织约加入 1ml TRNAzol。
- 2、动物组织：取新鲜组织或 -80℃ 冷冻的组织，按照 30 ~ 50mg 组织加入 1ml TRNAzol，用匀浆器进行匀浆处理或直接加入液氮研磨。
- 3、细胞样品：收集细胞，按照  
A、贴壁细胞：吸尽培养液，每 10cm<sup>2</sup> 细胞加入 1ml TRNAzol。一般六孔板每孔加 1ml TRNAzol，12 孔板每孔加 0.5ml TRNAzol。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。

- B、悬浮细胞：离心收集细胞，吸尽液体，每  $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  动植物或酵母细胞，或  $1 \times 10^7$  细菌，加入 1ml TRNAzol。用枪吹打，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。

### 二) 操作步骤：

- 1、细胞或组织加入 TRNAzol 后，室温放置 5 ~ 10min，使其充分裂解。  
注：此时可放入 -70℃ 长期保持。
- 2、12000rpm 离心 5min，取上清。
- 3、按 200 μl 氯仿 /ml TRNAzol 加入氯仿，振荡混匀 30s，室温放置 15min。  
注：若需要同时提取 DNA，则禁用漩涡振荡器，以免基因组 DNA 断裂。  
若样品中蛋白含量较高，可重复抽提一次。
- 4、4℃ 12000 rpm 离心 15 min。  
离心后，样品会分为 3 层：下层粉红色有机相，中间层和上层水相，RNA 主要在上层水相中，吸取上层水相转移到新的离心管中。  
注：不要吸取中间界面。  
若同时提取 DNA 和蛋白质，则保留下层酚相存于 4℃ 冰箱，若只提 RNA，则弃下层酚相。
- 5、加入上清量 0.7 ~ 1 倍体积的异丙醇，室温放置 10 ~ 30min。
- 6、4℃ 12000rpm 离心 10min，弃上清，RNA 沉于管底。  
注：离心之前 RNA 一般是看不到的，离心后 RNA 在管壁和管底形成胶状透明或白色沉淀。样品中 RNA 含量低时有可能看不到沉淀，应按照正常步骤继续进行。
- 7、加入 1ml 75% 乙醇，温和振荡离心管，悬浮沉淀。  
注：每使用 1ml TRNAzol 至少使用 1ml 75% 乙醇进行漂洗。
- 8、4℃ 12000 rpm 离心 5min，尽量弃上清。
- 9、室温晾干或真空干燥 5 ~ 10min。  
注：RNA 不要过于干燥，否则很难溶解。
- 10、加入 30-100 μl RNase-free ddH<sub>2</sub>O 溶解 RNA，放置 5min，反复吹打混匀，充分溶解 RNA。