



## TRNzol Total RNA Extraction Reagent

### TRNzol 总 RNA 提取试剂



系列：RNA  
品牌：博乐莱  
目录号：BLGE114  
规格：100ml

#### 一、产品情况

TRNzol Total RNA Extraction Reagent 是基于传统 TRNzol 开发的总 RNA 提取试剂。本品适用范围广泛，灵敏度、裂解能力和稳定性更高，可快速、充分的从细菌、病毒、微生物、动物、植物的组织、细胞和体液等样本中提取总 RNA，并保证其完整性。

本品可最大限度消除 DNA 和蛋白等杂质的污染，在分子克隆、Northern Blot、PolyA 筛选、体外翻译、RNase 保护分析等多种实验方案中实验稳定，结果可靠。对于小量样品（50-100mg 组织、 $5 \times 10^6$  细胞），或大量样品（ $\geq 1g$  组织或 $\geq 10^7$  细胞）的总 RNA 提取需求均可满足。

#### 二、储存运输

本品 2~8°C 避光保存或运输，保质期 12 个月。

#### 三、注意事项

（一）使用本品时注意防护，如果不慎接触到眼睛，请立即用大量清水冲洗并前往医院治疗；接触到皮肤，请立即用大量去垢剂和清水冲洗，如仍有不适，请前往医院治疗。

（二）RNA 提取的关键在于防止 RNase 污染，请：

1. 更换一次性手套；
2. 在洁净区域操作；
3. 佩戴口罩，避免在操作过程中讲话；
4. 使用 RNase-Free 的塑料制品和枪头；
5. 使用 150°C 烘烤 4 小时的方式清洁玻璃类器皿；
6. 0.5M NaOH 中浸泡 10min 的方式清洁塑料类器皿；
7. 使用 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 配制溶液；
8. RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 分装保存，RNA 实验用试剂专用。

（三）样本保存

1. -70°C 可保存匀浆后的样品 1 个月；

---

2. RNA 沉淀可保存于 75%乙醇, 2-8℃ 1 周或-20℃ 1 年。

## 四、实验流程

(一) 自备产品  
企业名称: 江西康基基因科技有限公司 联系方式: 0797-8187656 Email: biolight\_info@163.com  
企业地址: 江西省赣州市章贡区高新区武当山路 1 号赣州国家高层次人才科创园(二期) 2 栋 5 层

氯仿、异丙醇、75%乙醇(RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 配置)、RNase-Free ddH<sub>2</sub>O

### (二) 样品处理

#### 1. 细胞

##### 1.1 贴壁细胞

收集的细胞数量请不要超过  $1 \times 10^7$ ; 可直接在体积不超过 10cm<sup>2</sup> 培养容器中裂解, 或使用胰蛋白酶处理后, 离心收集细胞沉淀。

##### 1) 直接裂解法

- 去除培养液后, 用 1×PBS 清洗细胞;
- 在培养容器中加入 TRNzol Total RNA Extraction Reagent 试剂裂解细胞, 每 10cm<sup>2</sup> 面积加入 1 ml 本品;
- 将裂解液转移至 1.5ml 离心管中用移液器反复吹打, 至充分裂解, 室温静置 5 min。

**注意:** 本品吸取量取决于培养板面积, 而非细胞数。请充分将本品覆盖至细胞表面, 并用移液器吹打使之脱落; 对于贴壁牢固的细胞可用细胞刮剥离。

请适量加足 TRNzol Total RNA Extraction Reagent 的用量, 如本品使用量不足可导致提取的 RNA 中掺入 DNA 污染。

##### 2) 胰蛋白酶处理法

- 去除培养液后, 用 1×PBS 清洗细胞;
- 去除 PBS 后, 加入含 0.25%胰蛋白酶的 PBS 处理细胞。待细胞脱离容器壁时, 加入含有血清的培养基终止反应;
- 将细胞溶液转移至 RNase-Free 的离心管中, 300×g 离心 5min, 收集细胞沉淀;
- 每  $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  细胞中加入 1ml TRNzol Total RNA Extraction Reagent 试剂裂解细胞, 室温静置 5min。

**注意:** 收集细胞时请将细胞培养液除净, 否则可因裂解不完全导致 RNA 的产量降低。

##### 1.2 悬浮细胞

- 离心取细胞;
- 每  $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  动物或植物细胞中加入 1ml TRNzol Total RNA Extraction Reagent 试剂;
- 移液器反复吹打至充分裂解, 室温静置 5min。

**注意:** 加入本品前不要洗涤细胞, 以免降解 mRNA。

---

## 2.组织

### 2.1 动物组织

- 液氮速冻新鲜组织，并快速转移至液氮预冷的研钵中，研磨至无明显颗粒的粉末状；
- 每 30~50mg 组织加入 1ml TRNzol Total RNA Extraction Reagent 试剂，样品体积一般不要超过本品体积的 10%；
- 静置样品混悬液 5min，待完全融化后吹打至裂解液透明。

### 2.2 植物组织

- 液氮研磨新鲜叶片或将叶片剪碎后在含 TRNzol Total RNA Extraction Reagent 试剂的研钵中研磨，控制时间在 1min 内；100mg 叶片请使用 1ml 本品；
- 静置样品混悬液 5 min，待完全融化后吹打至裂解液透明。

### 3.病毒液与血液

- 取新鲜的血液或病毒液加入 3 倍体积 TRNzol Total RNA Extraction Reagent 试剂充分振荡混匀；
- 室温放置 5min，使核酸蛋白复合物完全分离。

## (三) RNA 分离

1. 4°C 12,000rpm(~13,400×g)离心 10min，取上清。

**注意：**含较多蛋白、脂肪、多糖或肌肉、植物结节的样品可使用离心方式去除，收集的沉淀包括细胞外膜、多糖、高分子量 DNA，在上清中含有 RNA。在制备脂肪组织样品时，应除去上层的大量油脂，取澄清的匀浆溶液进行后续操作。

2.每使用 1ml TRNzol Total RNA Extraction Reagent 试剂加入 0.2ml 氯仿，混合均匀后用涡旋仪剧烈振荡 15sec，或手动快速颠倒混匀 2min。

3.室温放置 3min 后，于 4°C 12,000rpm(~13,400×g)离心 15min，此时样品将分为三层：粉色的，为有机相；中间层和上层无色的，为水相，RNA 主要在水相。将水相（约 500μl）转移至新的离心管中。

4.将得到的水相溶液中加入等体积异丙醇，混匀。

5.室温放置 10 min 后，于 4°C 12,000rpm(~13,400×g)离心 10min，去上清。

**注意：**离心前 RNA 沉淀常不易发现，离心后可在管侧和管底观察到胶状沉淀。

6.用 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 配置 75%乙醇，取 1ml 洗涤沉淀。

**注意：**按 TRNzol Total RNA Extraction Reagent: 75%乙醇为 1:1 的比例使用，如每使用 1ml TRNzol Total RNA Extraction Reagent 试剂，请取用 1ml 75%乙醇洗涤沉淀。

---

7. 4°C 10,000rpm(~9,391×g)离心 5min 后，废弃液体。注意不要倒出沉淀，剩余的少量液体短暂离心后，用枪头吸出。

**注意：**保留沉淀，不要误弃。

8. 室温放置晾干后，根据实验需求加入 30-100μl RNase-Free ddH<sub>2</sub>O，反复吹打，充分溶解 RNA。

**注意：**RNA 不要晾的过干，以防后期 RNA 难以溶解。控干时间请控制在 2-3min。

9. 待 RNA 完全溶解后，取少量检测，其余在 -80°C 保存。

**注意：**RNA 可以分装于 -85~-65°C 长期保存，而 -30~-15°C 仅可短期保存。

#### 10. 产物检测方案

- 浓度：采用分光光度计检测，RNA 浓度(ng/μl)=OD<sub>260</sub>×稀释倍数×40；或采用 Qubit 直接检测。
- 纯度：采用分光光度计检测，OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值在 1.8~2.2 之间表明 RNA 纯度较高。
- 完整性：取 0.5~1μgRNA，用 1×TE 或 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 稀释至 8μl 后，加入 1μl 10×DNA loading buffer 进行 1%琼脂糖凝胶电泳；或采用 2100 检测，测定 RNA 产物的 RIN 值。

## 五、常见问题及处理方案

RNA 降解	<p>A. 细胞或组织取出后没有马上处理或冷冻；针对内源 RNase 含量高或不易匀浆的组织，需将组织切成小块后立即投入液氮冷冻并研磨。在整个研磨过程中，样品不得融化；</p> <p>B. 样品或提取的 RNA 沉淀保存于 -20°C-室温，未在 -80°C- -60°C 保存；</p> <p>C. 细胞在胰蛋白酶处理时被破坏；</p> <p>D. 溶液或离心管未经 RNase 去除处理；</p> <p>E. 提取的 RNA 有基因组污染；</p> <p>F. 电泳时使用的甲酰胺 pH 低于 3.5。</p>
低得率	<p>A. 样品裂解或匀浆处理不彻底；</p> <p>B. 在加入异丙醇的手续步骤中，误弃 RNA；</p> <p>C. 最后得到的 RNA 沉淀未完全溶解。</p>
A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub> <1.65	<p>A. 检测吸光度时，RNA 样品不是溶于 TE，而是溶于水。低离子浓度和低 pH 条件下，A<sub>280</sub> 值会较高；</p> <p>B. 样品匀浆时加入的本身体积太少；</p> <p>C. 匀浆后样品未在室温放置 5 min；</p> <p>D. 水相中混有有机相；或误弃水相成分；</p> <p>E. 最后得到的 RNA 沉淀未完全溶解。</p>
DNA 污染	<p>A. 样品匀浆时加的本身体积太少；</p> <p>B. 样品中含有组织溶剂（如乙醇、DMSO 等），强缓冲液或碱性溶液。</p>

蛋白和多糖污染	A. 样品中蛋白、多糖含量高; B. 水相中混有有机相。
---------	---------------------------------