

Easy-TRNpure Reagent

免氯仿 RNA 抽提试剂

目录号: RNE02

制品内容

Easy-TRNpure Reagent*	100 ml
-----------------------	--------

*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。

保存方法

2-8°C 保存两年。

产品介绍

Easy-TRNpure Reagent 广泛适用于从各种动物组织、幼嫩植物、培养细胞、细菌、酵母等样品中分离纯化总 RNA 和 Small RNA。Easy-TRNpure Reagent 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。

与传统 Trizol 提取方法相比，Easy-TRNpure Reagent 无需添加氯仿，用法简单且全程可在常温进行，提取的总 RNA 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。

注意事项

1. 自备异丙醇、75%乙醇（用 RNase-free H₂O 配制）、RNase-free H₂O。
2. 所有离心步骤均在室温下进行。

标准抽提步骤

1. 样品匀浆

a) 动物/植物组织:

将组织在研钵中用液氮充分研磨成粉末，取 **25-50 mg** 粉末，加入 **500 μl Easy-TRNpure Reagent**，盖好管盖，用力振荡混合均匀。

b) 单层培养细胞:

弃去培养基，向直径 3.5 cm 的培养板/瓶中加入 **500 μl Easy-TRNpure Reagent**（按培养板面积而不是细胞数决定加入量，每 10 cm² 加入 **500 μl**），用移液器轻轻反复吸打裂解细胞至溶液透明，吸取匀浆液到一个 1.5 ml 离心管中。

c) **细胞悬液:**

离心收集细胞，弃尽上清，每 $1-5 \times 10^6$ 个细胞加入 **500 μ l Easy-TRNpure Reagent**，用移液器反复吸打直至充分裂解。

注意: 加入 **Easy-TRNpure Reagent** 前不要洗涤细胞，以免降解 mRNA。一些酵母和细菌可能需要匀浆仪或液氮研磨破壁处理。

2. 向匀浆液中加入 **2/5 体积的 RNase-free H₂O** (每 **500 μ l Easy-TRNpure Reagent** 加入 **200 μ l RNase-free H₂O**)，盖好管盖，用力振荡 15 s 混匀，室温孵育 5 min。

3. **室温 12,000 rpm 离心 15 min**。此时溶液分成上层水相 (含 RNA) 和深色的下层沉淀 (含蛋白质、DNA、多糖等杂质)，小心吸取上层水相至一个新的离心管中。

注意: 1) 上层水相体积约占总体积的 90%，如用 **500 μ l Easy-TRNpure Reagent** 提取，上层水相约为 **640 μ l**，建议吸取 **500 μ l** 进行后续操作；针对微量的样本进行提取时，为减少 RNA 损失，可以全部转移上清。2) 当样本量较小时，离心后可能不会出现下层沉淀，属于正常现象，可继续按后续步骤完成提取。

4. 加入等体积异丙醇，上下颠倒充分混匀，室温静置 10 min。

5. **室温 12,000 rpm 离心 10 min**，通常可见白色 RNA 沉淀，小心弃去上清。

注意: RNA 沉淀在离心前通常不可见，离心后在管侧壁和管底形成薄片状沉淀 (样品量少的情况下，RNA 沉淀散在管侧壁和管底有可能看不到明显沉淀)。部分组织材料由于含有较多的代谢产物，导致沉淀不能聚集而分散在离心管壁上，此时，请沿液面缓慢吸弃上清。

6. 加入 1 ml 75%乙醇 (用 RNase-free H₂O 配制) 漂洗沉淀，涡旋振荡 5 s 让沉淀悬浮起来，并上下颠倒数次。

7. **室温 12,000 rpm 离心 3 min**，小心弃去上清。

8. 重复步骤 6 和 7 一遍。

注意: 弃去大部分上清后，建议短暂离心将残留液体甩至管底，用 **200 μ l** 吸头吸尽残留的乙醇，保留管底及侧壁的白色 RNA 沉淀。

9. 打开离心管盖，室温放置晾干 (晾干 1 min 左右即可，不要晾的过干，RNA 完全干燥后很难溶解)。根据实验需要，加入 **30-100 μ l RNase-free H₂O**，涡旋 3 min (或使用移液器反复吸打管底和管壁的沉淀帮助溶解)，得到的 RNA 溶液保存在 **-70 $^{\circ}$ C**，防止降解。

注意: 从某些样本提取 RNA 时，RNA 沉淀并非完全聚集在离心管管底，而是以均匀的薄雾状沉淀吸附在管侧壁上。请注意仔细观察，并用移液器吹打管底和沉淀所在的管侧壁充分溶解所有的 RNA。
