

Superbrilliant[®] TRI RNA 裂解液

Superbrilliant[®] TRI RNA Reagent

Cat. No.: ZS-M11008

组分

货号	组分	ZS-M-11008S	ZS-M-11008M
102001	TRI RNA Reagent	100 ml	200 ml
	说明书	1 份	1 份

储存：2-8℃避光保存，可保存 2 年。

简介: Superbrilliant® TRI RNA 裂解液是一种可提取动植物样品中 RNA 的制品。实验操作快速方便, 颜色鲜明, 便于分层。样品在 TRI RNA Reagent 中能够充分被裂解, 在样品匀浆或裂解过程中, 它可保持 RNA 的完整性, 同时裂解细胞, 溶解细胞内含物, 加入氯仿后, 溶液分为无色水相和粉红色有机相, RNA 在水相, 用异丙醇可沉淀回收 RNA, 有机相用异丙醇可回收蛋白质。该试剂可用于小量样品 (50-100 mg 组织、 1×10^6 细胞) 也适用于大量样品 (≥ 1 g 组织、 $>10^7$ 细胞)。TRI RNA Reagent 具有很强的广谱性, 可以适用于各种样品的总 RNA 提取, 对人、动物、植物组织、病毒、细菌、真菌等样本均适用, 可同时处理大量不同样品, 提取过程方便快捷, 整个提取过程在一小时内即可完成提取得率高、纯度高、完整性好的总 RNA。分离的总 RNA 蛋白质和 DNA 污染极低, 可用于 Northern Blot、反转录、polyA 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和基因克隆 cDNA 文库构建、荧光定量 PCR、高通量测序等各种分子生物学实验。

注意事项: 该试剂含有强变性剂, 请勿直接于皮肤接触或吞咽, 若接触到皮肤或眼睛请尽快到医院处理。实验时务必穿实验服, 戴手套。

操作方法

自备试剂: 氯仿, 异丙醇, 70%乙醇 (DEPC 水配置), RNase Free H₂O。

I 实验前准备:

RNA 制备的关键是要抑制细胞中的 RNA 分解酶和防止所用器具及试剂中的 RNA 分解酶的污染。因此, 在实验中必须采取以下措施: 戴一次性干净手套; 使用 RNA 操作专用实验台; 在操作过程中避免讲话等等。通过以上办法可以防止实验者的汗液、唾液中的 RNA 分解酶的污染。

注意事项:

1. 尽量使用一次性塑料器皿, 若用玻璃器皿, 应在使用前用 0.1% DEPC 水溶液在 37℃处理 12h, 然后在 120℃高压灭 30 min 以除去残留的 DEPC。
2. 用于 RNA 实验的试剂, 须使用干热灭菌 (180℃, 60 min) 或使用上述方法进行 DEPC 水处理灭菌后的玻璃容器盛装 (也可以使用 RNA 实验用的一次性塑料容器), 使用的无菌水须用 0.1%的 DEPC 处理后再进行高温高压灭菌。
3. RNA 实验用的试剂和无菌水都应专用, 避免混用后交叉污染。

II 实验操作

Superbrilliant® TRI RNA 裂解液的使用量情况如下

10 cm ² 贴壁培养细胞	1 ml
1×10^6 - 10×10^6 悬浮培养细胞	1 ml
50-100 mg 的普通组织样品 (肌肉等)	1 ml
30-50 mg 的特殊组织样品 (肝、脾等)	1-2 ml
30-50 mg 的植物材料	1 ml
白细胞 (1×10^6)	1 ml

样本量及 RNA 产量

样本类型	样本量	RNA 产量
白细胞	1×10^6 个	10~20 μ g
植物材料	25mg	10~20 μ g
细胞	1×10^6 个	8~15 μ g
肌肉/脑等组织	50mg	10~25 μ g
肝脏	50mg	100~300 μ g

TRI RNA 裂解液使用方法

	贴壁细胞	悬浮细胞、酵母、细菌	动植物组织
1. 样品预处理	每 10 cm ² 生长的培养细胞中倒出培养液, 用 PBS 清洗一次, 尽可能移除多余的溶液。	将悬浮培养细胞连同培养液一起倒入离心管中, 8,000 rpm 离心 2min, 弃上清, 加入 50μl 无菌水重悬细胞至无明显沉淀。	将样品转移至用液氮预冷的研钵中, 用研杵研磨组织, 其间不断加入液氮, 直至研磨成粉末状。
2. 收集贴壁细胞	贴壁细胞用胰酶消化至单细胞悬液 (37°C, 2min 左右)。1000-5000 rpm, 离心 5 min, 弃上清。加入 1~2 ml PBS, 轻轻吹打使细胞悬浮, 洗 1~2 次, 1000rpm, 离心 5 min, 弃上清。		
3. 加入 TRI RNA Reagent	加入 1 ml TRI RNA Reagent, 使裂解液均匀分布于细胞表面, 然后使用移液枪吹打细胞使其脱落。将细胞的裂解液转移至 1.5ml EP 管中。	加入 1ml TRI RNA Reagent。	将研磨好的组织加入到装有 1 ml TRI RNA Reagent 的 1.5ml EP 管中。
4. 裂解样品	加入 TRI RNA Reagent 后立即手腕用力上下颠倒至细胞、组织粉末等分散均匀, 无块状物。室温静置 5min, 使核酸蛋白复合物完全分离。		
5. 加氯仿	加入 200μl 氯仿, 手腕用力振荡 15s, 室温放置 5min。		
6. 离心分层	13,000rpm, 4°C, 离心 10min, 吸取 400~600 μl 无色上清至新的 1.5EP 管中。 *注意: 不要吸到中间层。		
7. 加异丙醇	向上述上清液中加入等体积异丙醇, 手腕用力上下颠倒数次, 于 -20°C 放置 5min。		
8. 离心沉淀总 RNA	13,000rpm, 4°C, 离心 10min, 小心倒掉上清, 留取底部总 RNA 沉淀。		
9. 漂洗总 RNA	向每管沉淀中加入 1ml 预冷的 70%乙醇, 上下颠倒数次, 13,000rpm 离心 5min, 小心倒掉上清, 留取底部 RNA 沉淀。		
10. 重复漂洗一次	重复步骤 9 再洗涤一次。		
11. 挥发残留乙醇	倒掉洗液, 再次短离心 10s 后, 用 10 μl Tip 头吸干剩余的洗液, 开盖置于室温晾干 (1~3min), 使乙醇挥发干净。		
12. 溶解总 RNA	每管加入 20~100μl TE Buffer 或 RNase Free H ₂ O 溶解总 RNA。		

建议: 如果细胞太多裂解后变黏了吸不上来, 可以剪一下枪头吸上来。贴壁细胞用细胞刮刀或枪头用力多刮几次, 或加 TRI RNA 裂解液前先收集一下细胞。

常见问题分析

1. 抽提率低。可能原因: (a. 样品裂解或匀浆处理不彻底; b. RNA 沉淀未完全溶解)
2. A260/A280<1.65。可能原因: (a. 检测吸光度时, RNA 样品没有溶于水, 而溶于了 TE 中; b. 样品匀浆时加的组织量过多; c. 分层后, 吸取上清液不足 500 μ l; d. 吸取水相时混入了有机相)
3. DNA 污染过多。可能原因: (a. 样品匀浆时加的试剂量太少或组织量过多; b. 样品中含有有机溶剂)

解决方法: 使用该试剂通常基因组 DNA 污染含量<0.1ng/ μ L, 如需要彻底去除 DNA 的污染, 请使用 Superbrilliant[®] DNase I(含 RNA 酶抑制剂) (ZS-M11009) 消化去除基因组 DNA 污染。

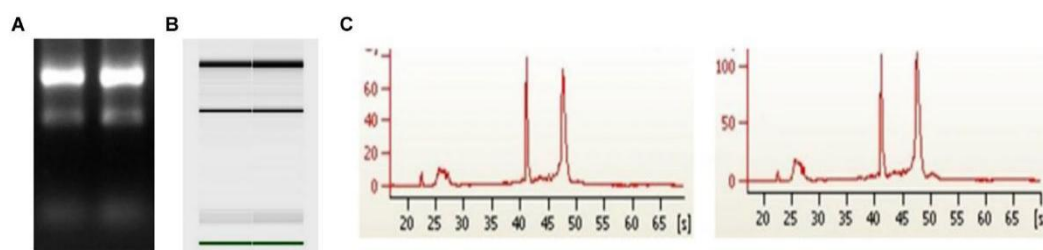


Fig 1. 使用 Superbrilliant[®] TRI RNA 裂解液提取乳腺癌 MDA-MB-231 细胞 RNA。Thermo NanoDrop 2000: $1.7 < A_{260}/A_{280} < 2.2$; A, 琼脂糖凝胶电泳。B, C, Agilent 2100 Bioanalyzer 检测图谱 $RIN \geq 7.0$ and $28S/18S > 0.7$ 。