

描述: 该试剂盒是在 TRIzol LS 的基础上改造而成, 主要成分分为 TRIzol LS 试剂。利用 TRIzol LS 中的高序盐成分, 可使 RNA 结合于硅胶膜上, 通过漂洗、洗脱即可获得高纯度 RNA。该试剂盒专门用于血液、血清、血浆、病毒液等液体样品, 可在最短的时间内获得高纯度的 RNA。获得的总 RNA 纯度高, 没有 DNA 和蛋白质污染, 适用于 RT-PCR、qRT-PCR、芯片分析、NGS 建库等实验。

组分

组 分	数 量
TRIzol LS	40 ml
氯仿替代物	12 ml
Washing Buffer (已含乙醇)	55 ml
Nuclease Free H ₂ O	6 ml
吸附柱芯(NP05)	50 套
2 ml 吸附柱外套管	50 套
1.5 ml 收集管	50 套

注意事项与准备工作:

- (1) Washing Buffer 中含有 70%乙醇, 使用时远离火源。
- (2) TRIzol LS 溶液有强烈的腐蚀性, 使用时务必做好防护, 防止灼伤皮肤和眼睛。如有发生, 立即用大量的清水冲洗, 并就医。
- (3) 整套吸附柱的准备: 提前将吸附柱芯放入到 2 ml 吸附柱外套管中, 待用。
- (4) 室温避光保存, 有效期为 2 年。

样本量及 RNA 产量

样本类型	样本量	RNA 产量
人全血	250 μ l	3~10 μ g
血清/病毒液	250 μ l	0.5~10 μ g

操作方法

1.1 取 250 μ l 抗凝全血、血浆、血清、病毒液样本 (体积不足时, 加水至 250 μ l), 加入至 750 μ l TRIzol LS 试剂中, 旋涡混合 15s, 静置 2min; 如样本为粪便等固体样品, 可用 PBS 重悬样品, 并匀浆后, 3000rpm 离心 5min, 取上清作为病毒液样品, 操作同上。

1.2 向上述溶液中加入 0.2 ml 氯仿替代物, 旋涡混合 15s, 室温放置 1min。

1.3 13000rpm 离心 2min 后, 吸取上层上清液 450-500 μ l, 到吸附柱芯中 (1.3 步骤准备)。

注意: 并保持吸附柱管盖处于打开状态。

1.4 向吸附柱芯的溶液中, 加入 300 μ l 的异丙醇 (此时总体积约 800 μ l), 盖上吸附柱管盖, 上下混合 2-3 次后, 13000rpm 离心 15s。

注意: 此步骤务必将异丙醇与上清液混合均匀后, 再进行后续离心, 否则会导致提取效率下降。

1.5 可将外套管中的过柱液, 再次倒入到吸附柱芯中, 离心 15s (再次过柱, 会提高产量 25%, 对产量要求不高的情况下, 可忽略此步骤)。

1.6 倒掉外套管中的过柱液, 此时 RNA 已经吸附在柱芯上。向吸附柱芯中加入 500 μ l Washing Buffer, 盖上管盖, 并上下颠倒 2~3 次 (进行柱芯和管壁洗涤), 放入离心机, 13000rpm 离心 10s。倒掉外套管中的废液, 并重复此洗涤步骤一次。

1.7 将整套吸附柱重新放回离心机, 13000rpm 空离心 1min, 将吸附柱芯残留的乙醇彻底甩干。

1.8 将吸附柱芯从 2ml 吸附柱外套管中取出, 并放入到新的 1.5 ml 收集管中, 向吸附柱芯中加入 60~100 μ l 的 Nuclease Free H₂O, 13000rpm 离心 1min, 洗脱液即为总 RNA, 冷冻保存。通常 RNA 的浓度为 10~200 ng/ μ l, OD260/280 约 1.9~2.1。