



TRNsol

产品简介

TRNsol(Total RNA solution)是一种改进型一步法RNA抽提试剂盒。是基于异硫氰酸胍/苯酚法的一种即用的从细胞和组织中提取总RNA的试剂，在样品裂解或匀浆过程中，TRNsol可保持RNA完整性，同时裂解细胞，溶解细胞内含物。加入氯仿后，溶液分为水相、中间层和有机相，RNA在水相中。取出水相，用异丙醇可沉淀回收RNA；中间层用乙醇沉淀可回收DNA；有机相用异丙醇沉淀可回收蛋白。

试剂盒组成

产品编号	D1101	D1105	D1106	D1107
TRNsol	5ml	50ml	100ml	250ml
说明书	1	1	1	1

储存和稳定性

TRNsol 4℃放置。试剂盒从购买之日起2年内有效。

预防RNase 污染，应注意以下几方面：

1. 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致RNase污染。
2. 使用无RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染。
3. RNA 在裂解液TRNsol中时不会被RNase 降解。但提取后继续处理过程中应使用不含RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在1500C烘烤4 小时，塑料器皿可在0.5 M NaOH 中浸泡10 分钟，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除RNase。
4. 配制溶液应使用RNase-free ddH₂O。（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC 至终浓度0.1%(v/v)，混匀后放置过夜，高压灭菌）。

注意事项

- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作步骤

1. 匀浆并裂解样本：

- a) **组织样本：**每10~100mg组织加入1ml TRNsol，建议使用机械匀浆器来匀浆。另外也可用液氮来破碎组织，用研钵、研杵把组织粉碎后，把粉末转移至一干净的1.5ml小离心管中。样本的体积应不超过所使用的TRNsol的体积的10%。
- b) **悬浮培养的细胞：**离心沉淀收集细胞。1ml的TRNsol试剂可用于处理(5~10)×10⁶个动物、植物或酵母细胞，或1×10⁸个细菌细胞。在加入TRNsol前应避免洗涤细胞，因为这样可以增加mRNA降解及RNA酶污染的可能性。对植物、真菌和酵母细胞，通常需要进行机械匀浆或酶解。
- c) **单层贴壁培养的细胞：**通过直接把1ml TRNsol加至一直径为3.5cm的培养皿的方法来裂解细胞，用枪头吹打裂解物几次。TRNsol的用量随培养皿的面积而定（1ml/10ml）。如果加的TRNsol不足，则会导致在分离得的RNA中有DNA污染。如果裂解物用枪头吸起来时很粘稠，往往需多加些TRNsol。
- d) **血液样品：**250μl的新鲜全血加750μl TRNsol，剧烈颠倒混匀。注：第二步操作中，加入氯仿的量为0.2ml。

2. **每1 ml TRNsol中加0.2 ml 氯仿。**盖上离心管盖子，剧烈地振荡15sec，在冰上孵育5 min。室温下，12,000×g下离心10min。

此时混合物分成三层：底层为苯酚氯仿相层，中间层，和上层水相层。RNA完全存在于水相中。

3. **转移不多于80%上层水相至新的离心管中，往水相中加入异丙醇**，每使用1ml的TRNsol，加入500μl的异丙醇(注：如果是含多糖、多酚的植物样品，请加入300μl异丙醇的同时加入300μl 0.8M柠檬酸钠/1.2M NaCl混合液)。涡旋混匀，室温下放置10min，然后在4度下12,000×g离心10min。

糖类丰富的样本：富含多糖的植物样本或富含糖胺聚糖和蛋白质聚糖的动物样本需要使用以下的修饰的沉淀方法来获得纯的RNA。准备1份Buffer A (1.2M NaCl, 0.8M柠檬酸钠)。做完第二步后，紧接着依次往水相中加入异丙醇和Buffer A (1ml TRNsol加0.3ml的异丙醇和0.3ml的Buffer A)。旋涡混匀，并在室温下，≤12,000×g离心10min，这一高盐沉淀会减少复杂糖类的共同纯化。

4. **洗涤RNA:弃上清，并用75%乙醇洗涤沉淀一次。**旋涡混和样本，并在室温下以不超过7,500×g的速度离心样本5min。注意：75%的乙醇必须用DEPC处理过的灭菌水来配制，否则75%乙醇中残留的RNaseA会降解RNA。

5. **RNA的溶解:小心地吸弃乙醇，短暂离心将液滴甩到管底，用移液枪小心吸弃残留的溶液。**室温下空气干燥RNA 5-10min。不要用离心干燥装置或真空干燥装置，因为过度干燥会导致很难用水重新溶解RNA。加入适当的DEPC水溶解RNA。

可能出现的问题与对策

问 题	原 因	建 议
RNA 产量 低或降解了	RNA 过于干燥, 或 RNA 还没有完成溶解	RNA 洗涤后空气干燥 5-10min 即可,
	样品匀浆不够充分, 或匀浆时间过长, 导致溶液升温而引起 RNA 的降解	可以在冰上匀浆, 匀浆充分后, 室温放置 5min
	操作过程中引起 RNase 污染	按说明书的注意事项, 避免 RNase 污染
	样品贮藏条件不正确	样品-80℃保存, 或者采用 RNAlocker 保存液 (GBCIO #R7105)
DNA 的污 染	上清液转移得太多	转移上清时, 不要超过上清体积的 80%
	加入氯仿时没有剧烈振荡	按说明书加入氯仿后剧烈振荡, 或者涡旋
	TRNsol 的用量与组织用量关系不对	按说明书, 加入足量的 TRNsol
低 A_{260}/A_{280} 比 率	TRNsol 的用量与组织用量系不对关	按说明书, 加入足量的 TRNsol
	样品量太多	减少样品量或者增加 TRNsol 的用量
	加入氯仿时没有剧烈振荡	按说明书加入氯仿后剧烈振荡, 或者涡旋
	裂解不够充分	匀浆充分后, 室温放置 5min

可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C3105	MiniElute Gel Extraction Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
1758-0300	X-gal	1g
1758-1700	IPTG	10g
G3408	EB 替代物	1ml
T2876	TAE (50X)	500ml
T2866	TBE (5X)	500ml
D2313	dNTP	0.5ml
E174	DEPC	110ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G1005	TMB 染色剂 (AB 液)	10ml*2
G3422	DAB 染色液	1ml (20 X)
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2

广州捷倍斯生物科技有限公司

地址: 广州市国际生物岛螺旋四路一号研发B区403

电话: 020-82160415 Email: genebase@vip.163.com WEB: www.gbcbio.cn