

## TRNsol (Total RNA solution)

### 总RNA提取纯化试剂

#### 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。

TRNsol 试剂是一种完整、即用型试剂，可从多种生物样品中分离高质量总 RNA 或同时分离 RNA、DNA 和蛋白。该苯酚和异硫氰酸胍的单相溶液设计用于在一小时内从人、动物、植物、酵母菌或细菌来源的细胞和组织样品中分离 RNA、DNA 和蛋白的单独组分。

主要特点包括：

- 可从同一样品中分离 RNA、DNA 和蛋白
- 拥有卓越的裂解能力，甚至可处理困难的样品类型
- 针对组织、细胞、血清、病毒和细菌进行优化的配方和方案

#### 试剂盒组成

产品编号	TRN-0100	TRN-0500	TRN-1000
TRNsol	100mL	500mL	1000mL

#### 储存和稳定性

2-8℃避光冷藏密封放置，有效期长达24个月。

#### 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150℃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 ddH<sub>2</sub>O。（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)×10<sup>6</sup>个动物、植物或酵母细胞, 或1×10<sup>8</sup>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, 往水相中加入与水相等体积的异丙醇 (如500μl上清加入500μl异丙醇)。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0.3 ml的异丙醇和0.8ml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, 4℃ 10,000 rpm (~9,391×g) 离心5 min。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 (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 <sub>260</sub> /A <sub>280</sub> 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