



TRIGene Plus

总 RNA 提取试剂及辅助试剂

版本号: V240201

货号: P108
保存: 4°C 避光
运输: 低温

货号	规格
P108-05	100 rxn

【产品概述】

TRIGene Plus 是基于 TriZol 原理制备的一种通用总 RNA 提取试剂。其原理是利用异硫氰酸胍/酚, 快速裂解细胞, 溶解细胞内含物, 抑制核酸酶活性; 而后加入 RNA 抽提试剂 (RNA Extraction Reagent) 去除杂蛋白, RNA 保留在上层水相中, 分离后可用异丙醇沉淀回收获得。采用 RNA Extraction Reagent 替代了氯仿进行 RNA 抽提, 上下分相更加清晰且操作安全性更高。使用本产品提取 RNA 纯度高, 完整度好, 产量媲美传统氯仿法抽提, 可直接用于 RT-PCR、Northern blot、dot blot、polyA 筛选、体外翻译、RNase 保护实验和分子克隆等一系列操作。

【产品组分】

组分货号	组分名称	P108-05
ZP108-101	TRIGene	100 ml
ZP108-102	RNA Extraction Reagent	20 ml
ZA220	Nuclease-free Water (DEPC-treated)	15 ml

【保存条件】

4°C 避光密闭保存, 保质期 12 个月。

【注意事项】

- TRIGene 试剂中含有苯酚等有害物质, 应在通风橱内操作并使用个人防护用品如实验服、手套、防护眼镜或面具等, 防止皮肤接触和吸入。
- 预防 RNase 污染:
 - 采用无菌操作规程; 经常更换新手套, 防止样品由于皮肤携带的细菌、真菌而导致的 RNase 污染。
 - 使用经 Nuclease-free Water (DEPC-treated) 处理过的塑料容器和枪头, 避免交叉污染。
 - RNA 在 TRIGene 中不会被 RNase 降解。但后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°C 烘烤 4 h, 塑料器皿可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 min, 然后用水彻底清洗后灭菌烘干使用。
 - 实验前需准备的试剂: 异丙醇、75%乙醇、1.5 ml RNase-free 离心管。
 - 匀浆后加 RNA Extraction Reagent 前, 样品可在 -80°C 放置一个月以上; 溶解在 75%乙醇中的 RNA 可在 4°C 保存一周或 -20°C 保存一年。

【操作流程】

1. 细胞裂解

组织样本:

TRIGene 用量: 每 50-100 mg 组织加 1 ml TRIGene, 样品体积不应超过 TRIGene 体积的 10%。

- 将动物或植物组织切成小块, 在液氮中磨碎或用匀浆器匀浆处理。
- 将研磨好的组织粉末快速转入装有 1 ml TRIGene 的 RNase-free 离心管中, 在涡旋振荡器上迅速振荡混匀, 置于冰上, 待所有的样品研磨完。
- 裂解产物应呈澄清的透明粘稠液体。对于富含蛋白、脂肪或多糖物质的组织样品如肌肉、脂肪组织和植物结节部位等, 匀浆后仍会存留有不溶物质, 可于 4°C 12,000×g 离心 10 min, 然后吸取上清至一新的离心管中。

细胞样本:

- 贴壁细胞: 吸尽培养液, 每 10 cm² 培养面积 (6 孔板单孔或 35 mm 平皿) 加入 1 ml TRIGene, 用加样器吹打数



次，以确保细胞完全裂解，然后转移至离心管中。

注：TRIGene 的使用量应由培养皿表面积决定，而非由细胞数目决定。TRIGene 量不足可能导致提取的 RNA 中有 DNA 污染。

- 2) 悬浮细胞：离心收集细胞，吸尽液体，每 $5-10 \times 10^6$ 动植物或酵母细胞，或每 1×10^7 细菌细胞加入 1 ml TRIGene，用加样器吹打，使其完全裂解，然后转移至离心管中。

注：添加 TRIGene 前切勿洗涤细胞，以免 RNA 降解。必要时可以用匀浆器来裂解某些细菌或者酵母细胞。

2. 液相分离

- 1) 裂解产物于室温放置 5 min，使核酸-蛋白复合物完全分离。

注：此时样品可在 -80°C 长期保存。

- 2) 每 1 ml TRIGene 加入 200 μl RNA Extraction Reagent，盖紧管盖，剧烈振荡 15 s，室温放置 2-3 min。
- 3) 4°C 12,000 \times g 离心 15 min，样品会分成三层：桔黄色的下层有机相，中间层和无色的上层水相。
- 4) 吸取含总 RNA 的上层水相至一新的离心管中，吸取水相的体积为所用 TRIGene 试剂的 60%。

3. RNA 回收

- 1) 按照每 1 ml TRIGene 的最初使用量加入 500 μl 异丙醇，颠倒数次混匀，室温放置 10 min。
- 2) 4°C 12,000 \times g 离心 10 min，弃除上清，可见胶状的 RNA 沉淀。
- 3) 按照每 1 ml TRIGene 的最初使用量加入 1 ml 75%乙醇，颠倒数次混匀，洗涤沉淀。
- 4) 4°C 12,000 \times g 离心 5 min，弃除上清。
- 5) 室温倒置 5-10 min 晾干或真空抽干（不要使用真空干燥离心机，以免 RNA 过干，难以溶解）。
- 6) 加入适量（如 25 μl ）Nuclease-free Water，用加样器吹打数次溶解 RNA。
- 7) 通过 RNA 电泳以及紫外分光光度计检测，确定 RNA 的浓度、纯度和完整性。
- 8) 所得的 RNA 应立即使用或适量分装后 -80°C 保存，避免反复冻融。

【RNA 提取常见问题及解决方案】

问题	可能原因	解决方案
产量低	样品裂解或匀浆处理不彻底	加入 TRIGene 后彻底匀浆，植物和酵母在液氮中充分研磨
	RNA 终产物溶解不完全	注意避免 RNA 过分干燥；难溶的沉淀可于 $50-60^\circ\text{C}$ 加热 5 min
RNA 降解	组织或细胞样品不新鲜	采用新鲜材料；及时将提取 RNA 的样品应于 -80°C 或液氮冷冻保存
	提取的 RNA 长期保存置于 -20°C	应置于 -80°C 长期保存
	细胞在胰酶处理时被破坏	避免使用胰蛋白酶，直接使用 TRIGene 裂解细胞
	溶液或离心管未经 RNase 去除处理	所有步骤都需采用无 RNase 的试剂和容器
	电泳时使用的甲酰胺 pH 值低于 3.5	正确配制 RNA 变性凝胶
OD260/280 < 1.65	检测吸光度时，RNA 样品溶于水中	使用 TE 稀释 RNA 样品进行检测
	匀浆后样品未在室温放置 5 min	匀浆后室温放置 5 min
	苯酚污染（270 nm 强吸收峰）	4°C 下离心；小心吸取上层水相，避免混有有机相；对污染的样品使用乙醇沉淀去除苯酚
	最后得到的 RNA 沉淀未完全溶解	避免使用真空干燥离心机干燥 RNA 沉淀；对难溶的沉淀可于 $50-60^\circ\text{C}$ 加热 5 min 助溶
OD260/280 > 2.0	RNA 降解使 OD260 值升高	尽可能采取一切避免 RNA 降解的措施
DNA 污染	样品匀浆时的 TRIGene 用量过少	通常向每 50 mg 组织、每 10 cm^2 培养面积、或每 $5-10 \times 10^6$ 细胞中加入 1 ml TRIGene
	起始样品中含有溶剂、强缓冲液或碱性溶液	使用 DNase I 处理 RNA 溶液

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。