

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。