

描述: 该试剂盒是在 TRIzol LS 的基础上改造而成, 主要成分为 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、血浆/血清、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、Northern Blot 等实验。

组分

组 分	数 量
TRIzol LS	40 ml
Washing Buffer (已含乙醇)	55 ml
Nuclease Free H ₂ O	10 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:

- 1.1 自备试剂: 异丙醇、氯仿
- 1.2 Washing Buffer 中含有 70%乙醇, 使用时远离火源。
- 1.3 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。
- 1.4 整套吸附柱的准备: 提前将吸附柱芯放入到 2ml 吸附柱外套管中, 待用。
- 1.5 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. 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, 然后立即手腕用力上下颠倒混合均匀, 静置 5min; 如样本为粪便等固体样品, 可用 PBS 重悬样品, 并匀浆后, 3000 rpm 离心 5min, 取上清作为病毒液样品, 操作同上。
2. 向上述溶液中加入 0.2 ml 氯仿, 手腕用力振荡 15s, 室温放置 2min。
3. 13000rpm 离心 5min 后, 吸取上层上清液 450-500 μ l, 到吸附柱芯中 (1.4 步骤准备)。
注意: 并保持吸附柱管盖处于打开状态。
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。
5. 向吸附柱中加入 500 μ l Washing Buffer, 13000rpm 离心 15s; 重复此步骤一次。
6. 将吸附柱重新放回离心机, 13000rpm 空离心 2min, 将残留的乙醇彻底甩干。
7. 将吸附柱芯放入到 1.5 ml 收集管中, 向吸附柱芯中加入 40~60 μ l Nuclease Free H₂O, 室温放置 2min, 13000rpm 离心 1min, 洗脱液即为 RNA 产物, 冷冻保存。

注意: 本试剂盒也可用于组织细胞等样本的提取, 只需在第 1 步加完 TRIzol LS 后, 再加入 250 μ l Rnase Free H₂O 充分混匀, 后续操作步骤同 2-7。