



5. 在得到的水相溶液中加入等体积的70%乙醇（无RNase水配制），颠倒混匀。
6. 将上步所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns RM）中。若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm离心20秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入700μL Buffer RW1，12,000 rpm离心20秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
8. 向吸附柱中加入500 μL Buffer RW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心20秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
9. 重复步骤8。
10. 12,000 rpm离心2分钟，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟，彻底晾干。
注意：这一步目的是将吸附柱中残余乙醇去除，乙醇残留会影响后续酶促反应（酶切、PCR等）。
11. 将吸附柱置于一个新的无RNase离心管中，向吸附柱的中间部位加入30-50 μL RNase-Free Water，室温放置1分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集RNA溶液，-70℃保存RNA，防止降解。

注意：

- 1) RNase-Free Water体积不应小于30 μL，体积过小影响回收率。
- 2) 如果要提高RNA的产量，可用30-50 μL新的RNase-Free Water重复步骤11。
- 3) 如果要提高RNA浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤11。

Ultrapure RNA Kit 超纯RNA提取试剂盒

目录号： CW0581S（50 preps）

CW0581M（200 preps）

保存条件： TRIzol Pal™及TRIzol Reagent 2-8℃避光保存，其他组分室温（15-30℃）。

产品内容

Component	CW0581S 50 preps	CW0581M 200 preps
TRIzol Reagent	60 mL	2×110 mL
TRIzol Pal™	10 mL	2x20 mL
Buffer RW1	40 mL	160 mL
Buffer RW2 (concentrate)	11 mL	50 mL
RNase-Free Water	10 mL	50 mL
Spin Columns RM with Collection Tubes	50	200
RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 mL)	50	200

产品简介

本试剂盒是基于TRIZon改进后的柱式总RNA提取试剂盒，裂解液充分裂解并匀质化样本，采用独特的硅基质膜吸附技术，通过离心吸附柱在高盐状态下高效专一的结合溶液中的RNA，同时最大限度的有效除去蛋白质、无机盐离子及有机杂质等；可从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中快速提取总RNA，每次可处理30-50 mg组织或 5×10^6 细胞，可同时处理多个不同样品。本试剂盒提取得到的RNA可直接应用于RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译等实验。

产品特点

- 纯度高：最大限度除去蛋白质等杂质，提取的RNA可直接用于下游各种实验。
- 提取量大：独特的裂解液配方，充分裂解细胞或组织，RNA提取量多至100 μg 。
- 快速：步骤少，操作简单，节省时间。
- 兼容性强：适用于多种动植物组织和细胞RNA的提取。

自备试剂

70%乙醇(无RNase水配制)、无水乙醇。

实验前准备及重要注意事项

1. 预防RNase污染，应注意以下几方面：
 - 1) 使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染。
 - 2) 玻璃器皿应在使用前于180℃高温下干烤4小时，塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10分钟，用水彻底冲洗后高压灭菌。
 - 3) 配制溶液应使用无RNase的水。
 - 4) 操作人员戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套。
2. 样品应避免反复冻融，否则影响RNA提取得率和质量。
3. 使用前若发现TRIZon Reagent有沉淀，可置于56℃水浴几分钟，即可溶解。
4. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在Buffer RW2中加入无水乙醇。
5. 所有离心步骤若无特殊说明均在室温下进行，且所有操作步骤动作要迅速。
6. 若下游实验对DNA非常敏感，建议用不含RNase的DNase I（货号：CW2090S）对RNA进行处理。

使用方法

1. 样品处理
 - 1a. 植物组织：取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在TRIZon Reagent中迅速研磨，每30-50 mg组织加入1 mL TRIZon Reagent，混匀。
注意：样品体积不超过TRIZon Reagent体积的10%。
 - 1b. 动物组织：取新鲜或-70℃冻存的动物组织尽量剪碎，每30-50mg组织加入1 mL TRIZon Reagent，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入TRIZon Reagent 1 mL混匀。
注意：样品体积一般不要超过TRIZon Reagent体积的10%。
 - 1c. 单层培养细胞：吸去培养液，可直接在培养板中加入适量TRIZon Reagent（每10 cm^2 面积需要1 mL TRIZon Reagent），用取样器反复吹打使细胞裂解。也可用胰蛋白酶处理后，将细胞溶液转移至RNase-Free的离心管中，300 \times g离心5 min，收集细胞沉淀，仔细吸除所有上清，加入TRIZon Reagent 1 mL混匀。
注意：
 - 1) 收集细胞数量不要超过 1×10^7 。
 - 2) TRIZon Reagent加量根据培养板面积决定，不是由细胞数决定。如果TRIZon Reagent加量不足，可能导致提取的RNA中有DNA污染。
 - 3) 收集细胞时一定要将细胞培养液去除干净，否则会导致裂解不完全，造成RNA的产量降低。
 - 1d. 细胞悬液：离心收集细胞。每 5×10^6 — 1×10^7 动物、植物和酵母细胞或每 10^7 细菌细胞加入1 mL TRIZon Reagent。
注意：
 - 1) 加入TRIZon Reagent前不要洗涤细胞，以免RNA降解。
 - 2) 一些酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪或液氮研磨处理。
 - 1e. 血液处理：直接取新鲜的血液，加入3倍体积的TRIZon Reagent（推荐0.25 mL全血加入0.75 mL TRIZon Reagent），充分振荡混匀。
 - 1f. **可选步骤**：对于蛋白、脂肪、多糖或胞外物质含量高的样品，如肌肉组织、脂肪组织或植物的块茎，可以在匀浆处理后4℃，12,000 rpm（~13,400 \times g）离心10分钟以除去不溶物质，此时沉淀中含胞外物质、多糖和高分子量的DNA，而RNA存在于上清中。
2. 样品中加入TRIZon Reagent后反复吹打几次，使样本充分裂解。室温放置5分钟，使蛋白核酸复合物完全分离。
3. 每1 mL TRIZon Reagent加入200 μL TRIZon Pal™，盖好管盖，剧烈振荡15秒，室温放置2分钟。
4. 4℃ 12,000 rpm（~13,400 \times g）离心10分钟，此时样品分为三层：红色有机相，中间层和上层无色水相，RNA主要在上层水相中，将上层水相移到一个新的RNase-Free离心管（自备）中。