

# 氯仿代替物

货号：ZY-RC003

## 产品简介

RNA Extraction Buffer 用于在使用 Trizol 法进行 RNA 或 DNA 抽提时，代替氯仿使用，并且毒性较小。本产品相较氯仿具有更强的疏水性，提取时候可形成更紧密的中间层，大大减少 DNA 与蛋白残留和误吸中间层的几率，使得 RNA 纯度更高，得率可媲美传统 Trizol 法提取，提取效果更佳。

## 使用方法

请按每使用 1mL TRI Reagent 提取 RNA 时加入 200  $\mu$ L 本产品比例来使用（等同 RNA 提取中氯仿的使用量），其余操作步骤不变。

自备试剂：异丙醇、75%乙醇（用 RNase-free 水配制）。

### 1. 样本处理：

#### 1.1 动物/植物组织：

(1) 取新鲜组织立即用液氮速冻，迅速转移至液氮预冷的研钵中充分研磨，期间不断加入液氮，直至研磨成粉末状(无明显可见颗粒)；

(2) 将研磨至粉末状的样品转移到离心管中，每 50~100 mg 样品加入 1 mL TRI Reagent，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；



## 使用方法

(3) 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10min，然后吸取上清至一新的离心管中。

注：样品体积一般不要超过 TRI Reagent 体积的 10%，若取样量过多会导致提取的RNA中有 DNA 污染。

### 1.2 贴壁细胞

(1) 倒出培养液，每 10 cm<sup>2</sup>培养面积生长的细胞中加入 1 mL TRI Reagent，轻微晃动，使本产品充分覆盖到细胞表面，使用移液枪反复吹打使细胞裂解；

(2) 将含有细胞的裂解液转移至离心管中，用移液枪反复吹打直至裂解液中无明显沉淀；

### 1.3 悬浮细胞

(1) 将悬浮培养细胞连同培养液一起倒入离心管中，8,000 × g 4°C 离心2 min 收集细胞；

(2) 每  $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$  个细胞加入 1 mL TRI Reagent，用移液枪反复吹打直至裂解液中无明显沉淀。

2. 裂解产物于室温放置 5 min，使核酸-蛋白复合物完全分离。

注意：此时样品可在-80°C保存至少一个月。

3. 向上述裂解液中加入 1/5 TRI Reagent 体积的 RNA Extraction Buffer，盖好管盖，剧烈振荡 15 s，溶液呈乳浊状，室温静置 2-3 min；



## 使用方法

4.  $12,000 \times g$   $4^{\circ}\text{C}$  离心 15 min。此时样品分为 3 层：即上层无色的水相（含 RNA）、中间层和下层桔黄色的有机相；

5. 小心吸取上层水相（水相体积约占 TRI Reagent 体积的 60%，建议吸取  $500\mu\text{L}$  左右，避免吸取到中间层导致基因组 DNA 的污染）转移至新的离心管中；

6. 加入等体积的异丙醇，上下颠倒混匀，室温放置 10 min；

7.  $12,000 \times g$   $4^{\circ}\text{C}$  离心 10 min，去上清，此时管底会出现白色胶状沉淀，即 RNA；

8. 加入 1 mL 75% 乙醇（用 RNase-free 水配制）醇，颠倒数次混匀，洗涤沉淀。

9.  $12,000 \times g$   $4^{\circ}\text{C}$  离心 5 min，弃去上清；

10. 室温晾干 5~10 min。加入适量（如  $25\mu\text{L}$ ）RNase-free Water，用加样器吹打数次溶解 RNA，待沉淀完全溶解后将所得到的 RNA 溶液置于  $-80^{\circ}\text{C}$  保存或用于后续试验。

注意：不能使用真空离心机或加热的方法干燥 RNA，过分干燥会使 RNA 难以溶解，导致 OD260/OD280 值偏低。

## 注意事项

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品。

2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。



## 有效期

4°C避光保存，一年有效。

