

# TRIpure Reagent 抽提指南

## 警告:

有毒物接触皮肤或者不慎吞服,会导致灼伤。一旦接触皮肤后立即以大量的洗涤剂和清水清洗。若感不适,看医生并寻求苯酚和其他成分的正确治疗方案。

TRIpure在室温下能稳定保存12个月。尽管如此,为达到最佳效果,我们建议保存在2~8°C的环境下。

## 一般描述:

TRIpure试剂是直接从小细胞或组织中提取总RNA的试剂。它在破碎和溶解细胞时能保持RNA的完整性。加入氯仿后离心,样品分成水相层和有机层。RNA存在于水相层中。收集上面的水相层后, RNA可以通过异丙醇沉淀来还原。在除去水相层后,样品中的DNA和蛋白也能相继以沉淀的方式还原。乙醇沉淀能析出中间层的DNA,在有机层中加入异丙醇能沉淀出蛋白。共纯化DNA对于样品间标准化RNA的产量十分有用。

无论是人、动物、植物还是细菌组织,该方法对少量的组织(50-100mg)和细胞( $5 \times 10^6$ )以及大量的组织( $\geq 1g$ )和细胞( $> 10^7$ )均有较好的分离效果。TRIpure试剂操作上的简单性允许同时处理多个的样品。所有的操作可以在一小时内完成。TRIpure抽提的总RNA能够避免DNA和蛋白的污染。故而能够作RNA印迹分析、斑点杂交、poly(A)+选择、体外翻译、RNA酶保护分析和分子克隆。如果是用于PCR,当两条引物位于单一外显子内时,建议用扩增级的DNase I来处理抽提的总RNA。

TRIpure试剂能促进不同种属不同分子量大小的多种RNA的析出。例如,从大鼠肝脏抽提的RNA琼脂糖凝胶电泳并用溴化乙啶染色,可见许多介于7 kb和15 kb之间不连续的高分子量条带(mRNA和hnRNA成分),两条优势核糖体,5 kb (28S)和2 kb (18S),低分子量

RNA介于0.1和0.3 kb之间 (tRNA, 5S)。当抽提的RNA用TE稀释时其A260/A280比值 $\geq 1.8$ 。

### 预防RNA酶污染:

在抽提RNA过程中任一环节的不正确操作都可能导致RNA酶的污染。由于RNA酶的活性很难完全抑制，预防其污染是十分必要的。在实际的操作中应遵循以下指南：

- \* 全程佩戴一次性手套。皮肤经常带有细菌和霉菌，可能污染RNA的抽提并成为RNA酶的来源。培养良好的微生物实验操作习惯预防微生物污染。

- \* 使用灭菌的，一次性的塑料器皿和自动吸管抽提RNA，避免使用公共仪器所导致的RNA酶交叉污染。例如，使用RNA探针的实验室可能用RNA酶A或T1来降低滤纸上的背景，因而某些非一次性的物品（如自动吸管）可能富含RNA酶。

- \* 在TRIpure中，RNA是隔离在RNA酶污染之外的。而对样品的后续操作会要求用无RNA酶的非一次性的玻璃器皿或塑料器皿。玻璃器皿可以在150°C的烘箱中烘烤4小时。塑料器皿可以在0.5 M NaOH中浸泡10分钟，用水彻底漂洗干净后高压灭菌备用。

### 其他注意事项

- \* 当TRIpure用量少于2ml时建议使用清洁的一次性的聚丙烯材质试管。
- \* 当TRIpure用量较大时，可以使用玻璃试管(Corex)或聚丙烯材质试管，事先检验以确保该试管可以耐受加入TRIpure和氯仿后12,000 $\times$ g的离心力。不可使用有裂缝或者破损的试管。
- \* 离心前小心平衡试管。
- \* 离心前玻璃管口必须盖上铝箔并用石蜡膜封口，聚丙烯管必须盖紧。

### RNA 抽提操作步骤

**注意：**用 TRIpure 抽提 RNA 时要戴手套和护眼镜。避免接触皮肤和衣服。在化学通风橱