

# TIOSzol LS Reagent

Code: BT0022



## 产品简介

TIOSzol LS Reagent 是一种专门用于从液体样本（如细菌、病毒、酵母、细胞、血液、组织悬液）中提取高质量 RNA 的试剂。与普通 TIOSzol Reagent 相比，液体样本在 TIOSzol LS Reagent 中能够裂解得更充分。样品匀浆或裂解过程中，TIOSzol LS Reagent 既可保持 RNA 的完整性，又能裂解细胞，溶解细胞内含物。使用 TIOSzol LS Reagent 获得的总 RNA 蛋白质和 DNA 污染极低，可直接用于 Northern Blot、反转录、polyA 筛选、RNase 保护分析和基因克隆等后续分析。

本产品可处理的液体样本包括抗凝全血、血清、病毒液、体液等。病毒液指粪便等固体样品，需用 PBS 重悬样品，并匀浆后，3000rpm 离心 5min，取上清做为病毒液样品，其它样品直接使用即可。

## 产品特点

- 经典总 RNA 分离纯化方法，适于分离不同数量级样本的总 RNA；
- 适用于液体样本的总 RNA 提取。

## 储存

·2 ~ 8°C 避光保存，有效期 2 年。

## 自备试剂及仪器

·一次性手套及防护用品和纸巾，台式小量离心机（可配离心 1.5mL 和 2mL 离心管的转子）；液氮、氯仿，异丙醇，75%乙醇（DEPC 水配置），

RNase Free H<sub>2</sub>O。

## 注意事项

- TIOSzol LS Reagent 含有强变性剂，请勿直接与皮肤接触或吞咽，若接触到皮肤或眼睛请尽快到医院处理。实验时务必穿实验服，戴手套。
- 请勿应用 TIOSzol LS Reagent 直接处理大块固体组织，否则会影响 RNA 的产量。固体样品请使用 TIOSzol Reagent (Code: BT0021)。
- TIOSzol LS Reagent 可除去样本中大部分 DNA，但不能完全去除。RT-PCR 反应上、下游引物位于同一外显子时，应选用 DNase I 处理后的 RNA，或者使用 Polestar 1st cDNA Synthesis Kit (gDNA removal) 合成 cDNA (TR0101)。

## 操作步骤

1. 人或哺乳动物血液样本 200~250μL，非哺乳动物血液样本（红细胞有核细胞的，如鸡等物种）取 5~50μL，其他液体样本取 200~250μL。
2. 取将吸取的样品加入装有 750μl TIOSzol LS Reagent 的 1.5mL EP 管中，立即手腕用力上下颠倒至裂解物分散均匀，无块状物。
3. 室温静置 5min，使核酸蛋白复合物完全分离。加入 200μL 氯仿，手腕用力振荡 15s，室温放置 2min。
4. 13000rpm 离心 10min，吸取 600μL 上清至新的 1.5mL EP 管中。
5. 向上述 600μL 上清液中加入 600μL 异丙醇，手腕用力上下颠倒数次，静置 5min，13000rpm 离心 10min，小心倒掉上清，留取底部总 RNA 沉淀。
6. 向沉淀中每管加入 1mL 75%乙醇，上下颠倒数次，13000rpm 离心 5min，小心倒掉上清，留取底部 RNA 沉淀。
7. 重复步骤 6 再洗涤一次。
8. 倒掉洗液，再次瞬时离心后，用 10μL Tip 头吸干剩余的洗液，置于室温，使乙醇挥发干净（~20min）。

9. 每管加入 20~100 $\mu$ L TE Buffer 或 RNase Free H<sub>2</sub>O 溶解总 RNA。

### 样本量与产量

样本类型	样本量	RNA 产量
人全血	250 $\mu$ L	3~10 $\mu$ g
白细胞	1 $\times$ 10 <sup>6</sup> 个	10~20 $\mu$ g

### 提取效果不佳的原因

#### 1. 抽提率低:

- ①样品裂解或匀浆处理不彻底;
- ② RNA 沉淀未完全溶解。

#### 2. A260/A280<1.65:

- ①检测吸光度时, RNA 样品未溶于水, 而溶于 TE;
- ②匀浆时的样品量过大;
- ③分层后, 吸取上清液不足 500 $\mu$ L;
- ④吸取水相时混入了有机相。

#### 3. DNA 污染过多:

- ①匀浆时加入的裂解液太少, 或组织量过多;
- ②样品中含有有机溶剂。