



University of Isfahan
Biological Science and Technology
Department of Cell and Molecular Biology
Cellular and Molecular Laboratory
Farzaneh Forouharfar

عنوان

استخراج RNA از خون

اهداف

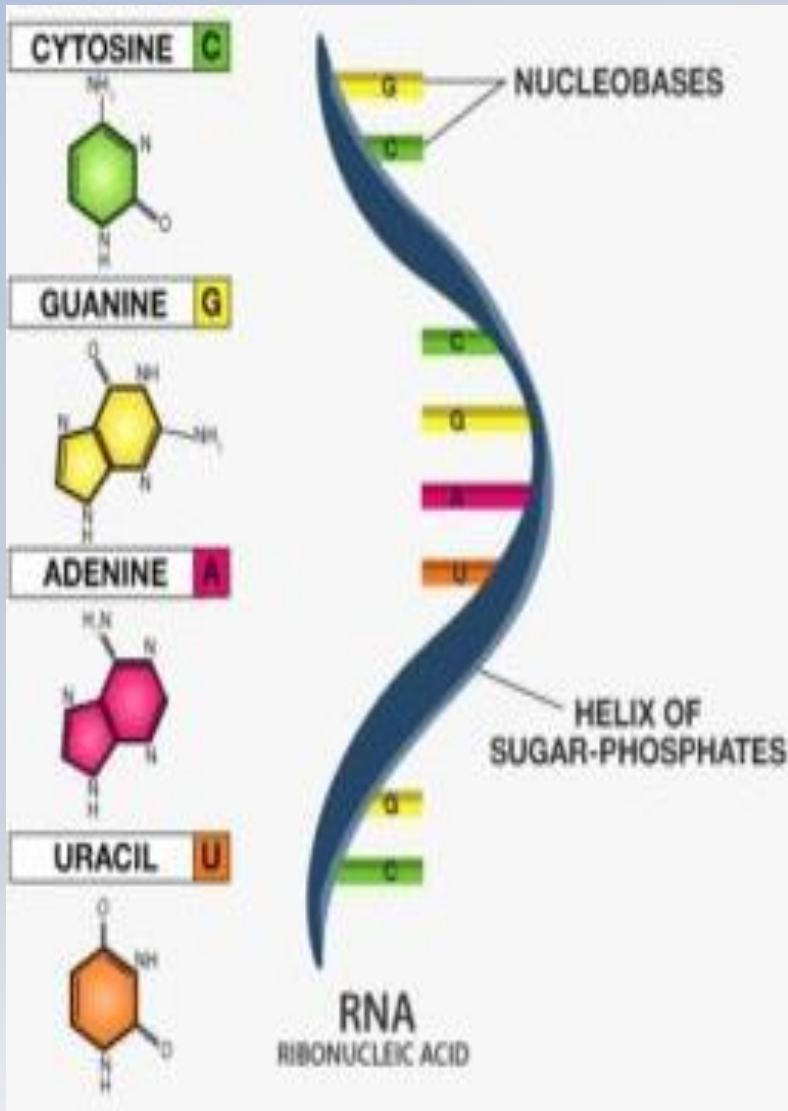
۱. بررسی اهمیت استخراج RNA از خون
۲. بررسی تکنیک‌های مختلف استخراج RNA از خون
۳. آشنایی با محلول ترایزول TRIZOL، کاربرد و مکانیسم اثر ترکیبات آن
۴. بررسی نحوه اندازه‌گیری کیفیت و کمیت RNA استخراج شده از خون



RNA (Ribonucleic Acid) اسید
ریبونوکلئیک) یک مولکول زیستی اساسی است که نقش حیاتی در انتقال اطلاعات ژنتیکی و سنتز پروتئین‌ها دارد. این مولکول پلی‌نوکلئوتیدی از نوکلئوتیدهایی تشکیل شده است که هر کدام شامل یک قند ریبوز، یک گروه فسفات و یکی از چهار باز نیتروژنی آدنین (Adenine)، گوانین (Guanine)، سیتوزین (Cytosine) و یوراسیل (Uracil) می‌باشد.

برخلاف DNA (اسید دئوکسی ریبونوکلئیک) که دورشته‌ای و پایدارتر است، RNA معمولاً تک‌رشته‌ای و ناپایدارتر است.

ویژگی‌های ساختاری RNA



۱. قند ریبوز: DNA دارای قند دئوکسی ریبوز است، اما قند RNA یک اتم اکسیژن اضافی دارد که آن را از نظر شیمیایی فعال‌تر و ناپایدارتر می‌کند.

۲. حضور باز یوراسیل: در RNA، به جای باز تیمین (Thymine) که در DNA یافت می‌شود، باز یوراسیل (Uracil) وجود دارد.

۳. ساختار تکرشته‌ای: بیشتر انواع RNA تکرشته‌ای هستند، اما برخی نواحی ممکن است ساختارهای مارپیچی ثانویه تشکیل دهند که در عملکرد آن نقش دارد.

انواع RNA و نقش‌های آن‌ها

۱. RNA پیام‌رسان (mRNA - Messenger RNA)

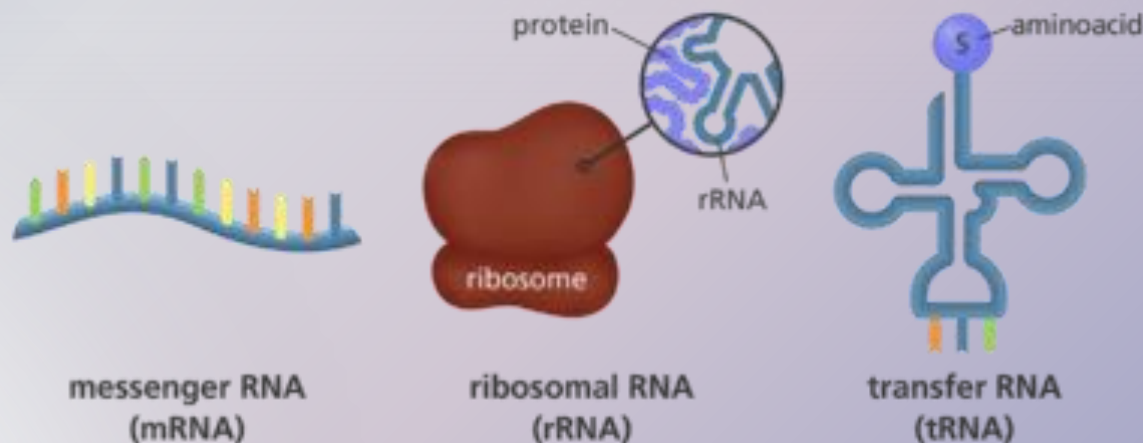
مولکولی است که اطلاعات ژنتیکی را از DNA در هسته سلول به ریبوزوم‌ها در سیتوپلاسم منتقل می‌کند تا در فرایند ترجمه به پروتئین تبدیل شود.

۲. RNA ریبوزومی (rRNA - Ribosomal RNA)

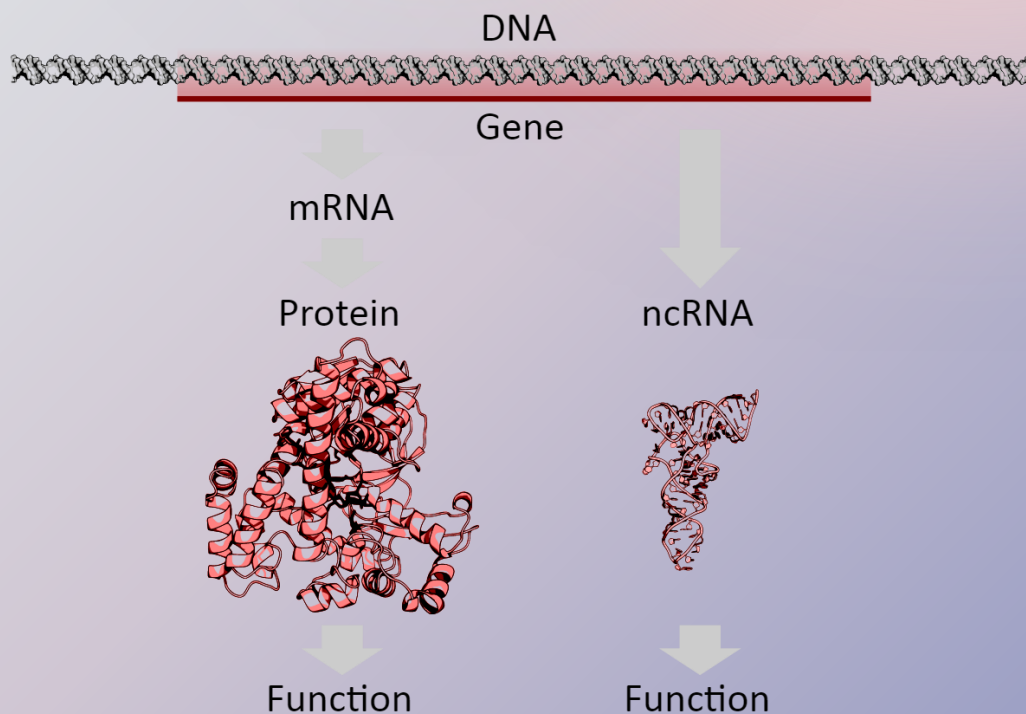
بخش اصلی ساختار ریبوزوم را تشکیل می‌دهد و در سنتز پروتئین‌ها نقش دارد.

۳. RNA ناقل (tRNA - Transfer RNA)

آمینواسیدهای مورد نیاز برای سنتز پروتئین را به ریبوزوم‌ها حمل کرده و با mRNA جفت می‌شود تا توالی صحیح پروتئین‌ها شکل بگیرد.



۴. RNA کوچک هسته‌ای (snRNA - Small Nuclear RNA) در فرایندهای تنظیمی مانند پردازش mRNA و حذف اینترون‌ها نقش دارد.
۵. RNA غیرکدکننده (ncRNA - Non-coding RNA) انواعی از RNA هستند که مستقیماً به پروتئین تبدیل نمی‌شوند اما در تنظیم بیان ژن، خاموش‌سازی ژن‌ها (RNA interference) و سایر فرایندهای سلولی شرکت دارند.



نقش RNA در زیست‌شناسی مولکولی

۱. انتقال اطلاعات ژنتیکی از DNA به ریبوزوم‌ها:

RNA پیام‌رسان (mRNA) اطلاعات ژنتیکی را از DNA در هسته سلول به ریبوزوم‌ها منتقل می‌کند.

۲. سنتز پروتئین در فرایند ترانسکرिپشن و ترجمه:

RNA در مراحل ترانسکرिپشن و ترجمه به تولید پروتئین‌ها کمک می‌کند.

۳. تنظیم بیان ژن‌ها و فرایندهای سلولی:

RNA در تنظیم بیان ژن‌ها و انجام فرایندهای مختلف سلولی نقش دارد.

۴. نقش در برخی ویروس‌ها:

برخی ویروس‌ها مانند ویروس آنفلوآنزا و کرونا (SARS-CoV-2) دارای ماده ژنتیکی از نوع RNA هستند.

اهمیت استخراج RNA از خون انسان



استخراج RNA از نمونه‌های زیستی مانند خون برای تحقیقات پزشکی، تشخیص بیماری‌ها و بررسی فعالیت ژن‌ها ضروری است. به دلیل ناپایداری زیاد RNA، استخراج آن نیاز به دقت بالا و شرایط خاص دارد. اهمیت استخراج RNA از خون انسان از ابعاد زیر می‌باشد:

۱. بررسی بیان ژن‌ها

RNA پیام‌رسان (mRNA) نشان‌دهنده ژن‌های فعال در یک سلول یا بافت خاص در یک زمان مشخص است. استخراج RNA به دانشمندان امکان می‌دهد سطح بیان ژن‌ها را در شرایط مختلف بررسی کنند.

۲. تشخیص بیماری‌ها

بسیاری از بیماری‌ها، از جمله سرطان‌ها، بیماری‌های عفونی و اختلالات ژنتیکی، با تغییر در بیان ژن‌ها همراه هستند. بررسی RNA در خون می‌تواند به تشخیص زودهنگام و مانیتورینگ بیماری کمک کند.

۳. تحقیقات مرتبط با ویروس‌های مبتنی بر RNA
برخی ویروس‌ها مانند ویروس آنفلوآنزا، کرونا (SARS-CoV-2) و هپاتیت سی (HCV) دارای ماده ژنتیکی از نوع RNA هستند. استخراج RNA از خون بیماران برای شناسایی و تعیین میزان عفونت این ویروس‌ها ضروری است.

۴. ساخت داروها و درمان‌های شخصی‌سازی شده
مطالعه بیان ژن‌ها از طریق RNA می‌تواند در طراحی داروهای هدفمند برای بیماری‌های مختلف، از جمله سرطان و بیماری‌های خودایمنی، نقش مهمی ایفا کند.

۵. تولید واکسن‌های مبتنی بر RNA
واکسن‌هایی مانند واکسن‌ها mRNA (مانند واکسن‌های مدرنا و فایزر برای کرونا) بر اساس RNA ساخته شده‌اند. استخراج و مطالعه RNA در فرآیند تحقیق و توسعه این واکسن‌ها اهمیت بالایی دارد.

۶. مطالعه مسیرهای سلولی و مکانیسم‌های مولکولی
استخراج RNA برای بررسی مکانیسم‌های مولکولی تنظیم ژن‌ها و مسیرهای زیستی در سلول‌ها استفاده می‌شود.

۷. کشف بیومارکرهای جدید

برخی RNA های غیرکدکننده (ncRNA) مانند miRNA می‌توانند به عنوان بیومارکرهای بیماری‌ها عمل کنند. شناسایی این مولکول‌ها در خون می‌تواند به تشخیص و پیش‌بینی پیشرفت بیماری کمک کند.

۸. پژوهش‌های ژنتیکی و پزشکی شخصی‌سازی شده

در پزشکی مدرن، استخراج RNA برای مطالعات مرتبط با ژن‌درمانی و ویرایش درمان‌های مبتنی بر RNA اهمیت دارد.

۹. بررسی تأثیرات محیطی و دارویی بر بیان ژن‌ها

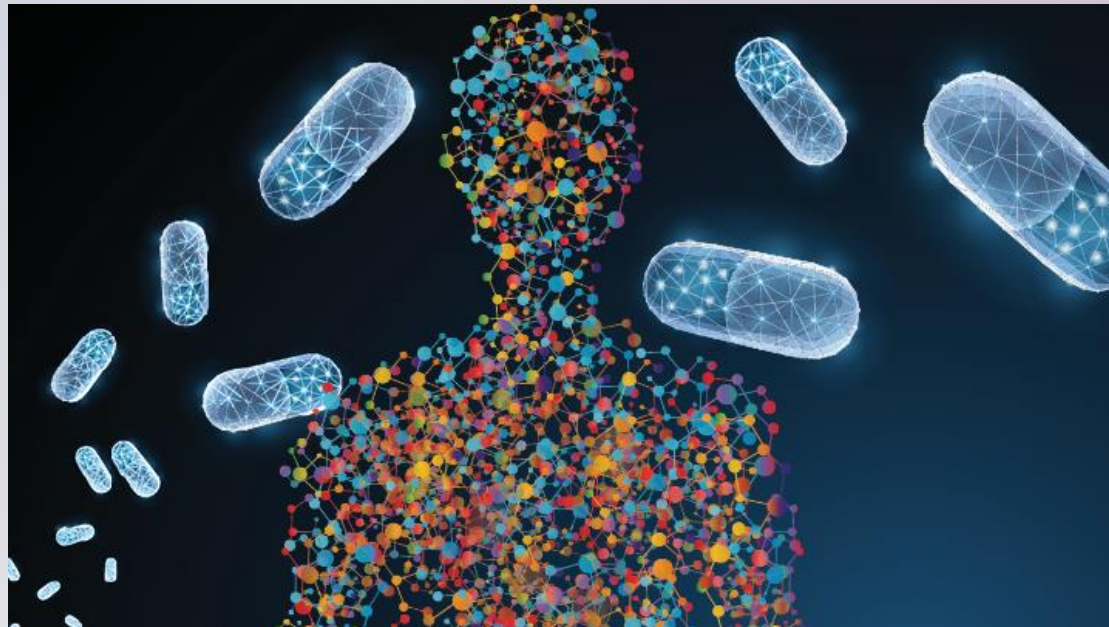
استخراج RNA از خون می‌تواند در بررسی تأثیر آلاینده‌های محیطی، تغذیه و داروها بر فعالیت ژنتیکی افراد نقش مهمی داشته باشد.

۱۰. تحقیقات مرتبط با تمایز و رشد سلولی

مطالعه RNA برای بررسی فرایندهای تمایز سلولی، رشد بافت‌ها و بیولوژی سلول‌های بنیادی اهمیت دارد.

بیومارکر چیست؟

بیومارکرها به نشانگرهای زیستی در بدن گفته می‌شود که می‌توان از آن برای شناسایی یک وضعیت زیستی خاص، از جمله وضعیت سلامت، بیماری یا پاسخ به درمان استفاده کرد. این نشانگرها می‌توانند مولکولهای زیستی مختلفی مانند پروتئین‌ها، DNA یا RNA باشند. بطور کلی RNA، در تحقیقات بررسی بیان ژن‌ها در شرایط مختلف، تشخیص بیماری‌ها، شناسایی ویروس‌ها، جهش‌های ژنتیکی و تشخیص انواع سرطان‌ها کاربرد دارد.



انواع روش‌های مختلف استخراج RNA

استخراج RNA یک فرآیند حساس است و به دلیل ناپایداری این مولکول و وجود آنزیم‌های تخریب‌کننده RNA (آران‌ای از RNase)، نیاز به دقت بسیار زیادی دارد. روش‌های مختلفی برای استخراج RNA از خون و سایر نمونه‌های زیستی وجود دارد که به سه دسته کلی تقسیم می‌شوند:

۱. روش استخراج بر پایه فاز مایع (فنل-کلروفرم) - روش TRIzol
۲. روش استخراج با استفاده از ستون‌های سیلیکا (ست‌های تجاری)
۳. روش استخراج مغناطیسی (Bead-Based RNA Extraction)

استخراج بر پایه فاز مایع (فنل-کلروفرم) - روش TRizol

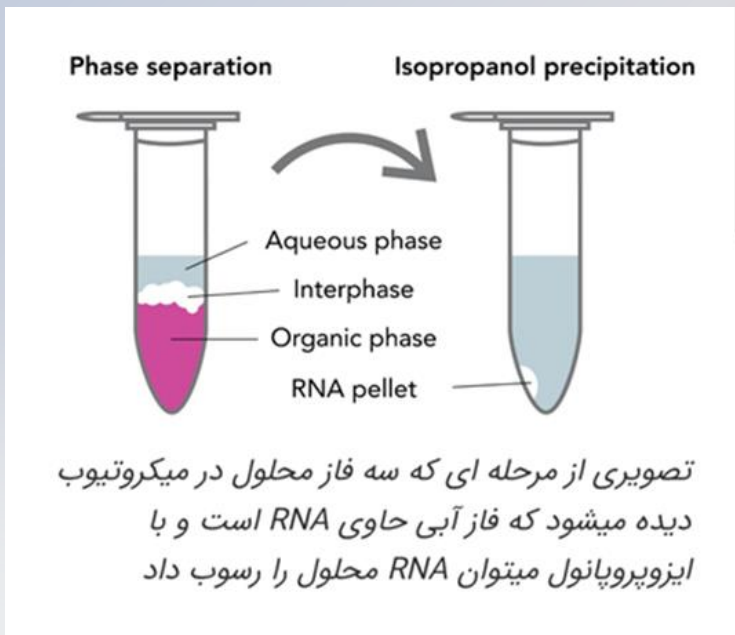
این روش بر اساس جداسازی مولکول‌های زیستی در دو فاز آلی و آبی با استفاده از محلول کلروفرم و ترايزول انجام می‌شود.

مراحل:

۱. لیز سلولی: نمونه خون با محلول TRizol مخلوط می‌شود تا سلول‌ها تخریب و پروتئین‌ها دناتوره شوند.

۲. افزودن کلروفرم: کلروفرم به نمونه اضافه شده و سانتریفیوژ می‌شود. این باعث تشکیل دو فاز می‌شود:

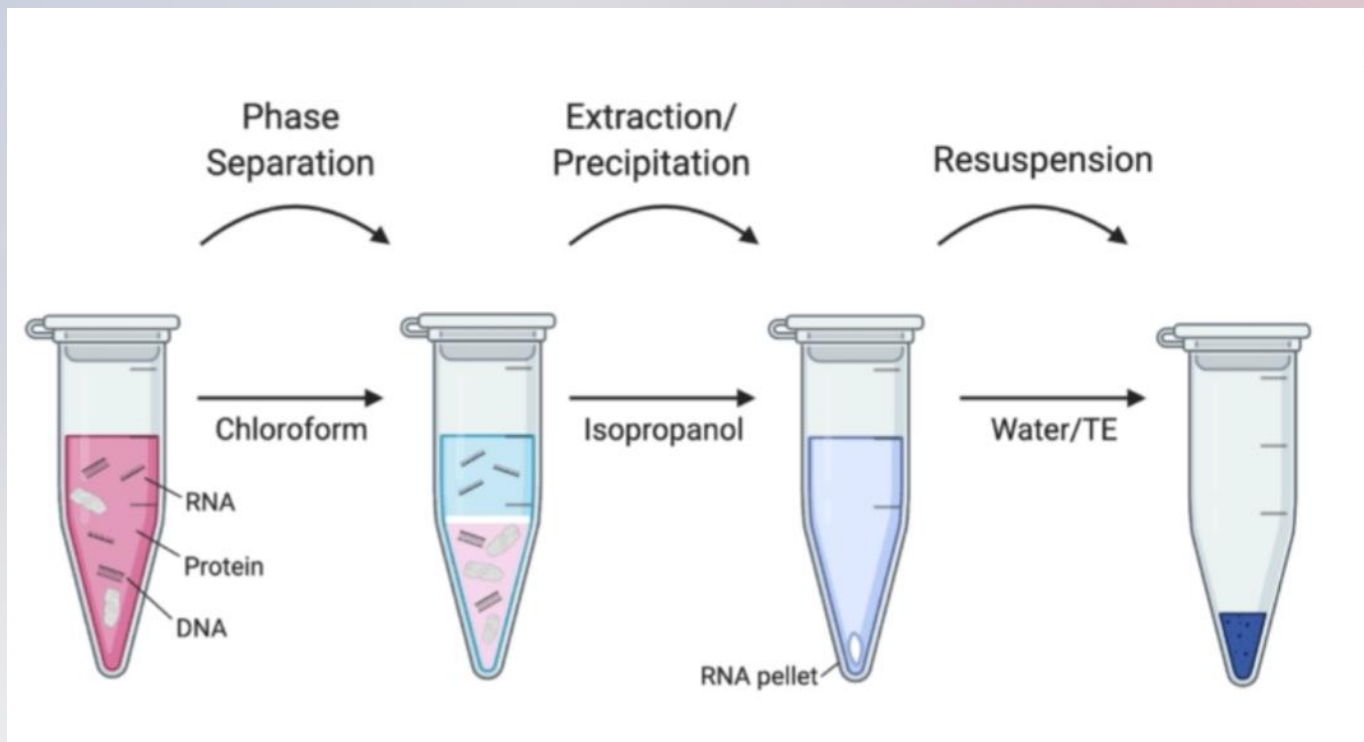
- فاز آبی (بالایی): حاوی RNA
- فاز میانی: حاوی DNA
- فاز آلی (پایینی): حاوی پروتئین‌ها



۳. رسوب‌دهی RNA: با استفاده از ایزوپروپانول، RNA از فاز آبی رسوب داده می‌شود.

۴. شستشو: رسوب RNA با اتانول ۷۰٪ شسته می‌شود.

۵. حل کردن: RNA در آب (RNase-free water) حل می‌شود.



مزایا

- بهره بالای RNA
- امکان جداسازی همزمان DNA و پروتئین‌ها
- مقرون به صرفه و مناسب برای حجم‌های زیاد

معایب

- استفاده از مواد شیمیایی سمی (مانند فنل و کلروفرم)
- نیاز به دقت بالا برای جلوگیری از آلودگی با RNase
- زمان بر بودن نسبت به روش‌های ستونی

روش استخراج با استفاده از ستون‌های سیلیکا (ست‌های تجاری)

این روش بر پایه اتصال انتخابی RNA به غشای سیلیکایی در شرایط خاص و شستشو با محلول‌های مناسب انجام می‌شود.

مراحل:

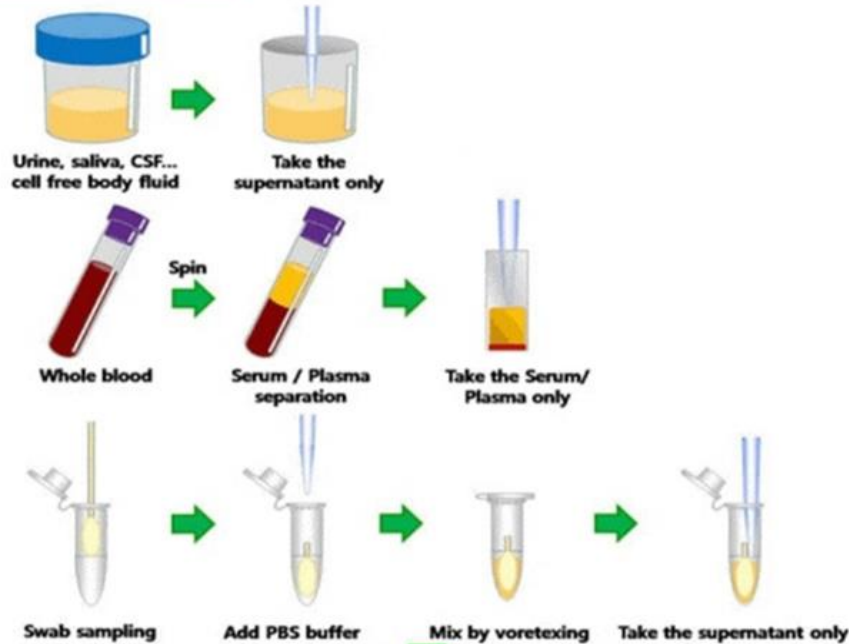
۱. لیز سلولی: نمونه خون با بافر لیزکننده حاوی نمک‌های دناتوره‌کننده ترکیب می‌شود.

۲. اتصال RNA به ستون: RNA در حضور اتانول به غشای سیلیکا متصل می‌شود.

۳. شستشو: ناخالصی‌ها (پروتئین‌ها و DNA) با بافرهای شستشو حذف می‌شوند.

۴. الوشن (Elution): RNA خالص با آب RNase-free از ستون خارج می‌شود.

Pre-treatment steps



Viral RNA Extraction



تکنیک استخراج به روش ستون
چرخشی مبنی بر غشای سیلیکا

مدلی از ستون استخراج
RNA

مزایا

- سرعت بالا و فرآیند ساده
- عدم استفاده از مواد سمی

معایب

- هزینه بالاتر نسبت به روش TRizol
- بهره کمتر نسبت به روش فنل-کلروفرم
- محدودیت در حجم نمونه قابل پردازش

روش استخراج مغناطیسی (Bead-Based RNA Extraction)

این روش از نانوذرات مغناطیسی با پوشش سیلیکا یا پلیمرهای خاص برای اتصال انتخابی RNA استفاده می‌کند.
مراحل:

۱. لیز سلولی: نمونه خون در حضور بافرهای اختصاصی لیز می‌شود.
۲. اتصال به ذرات مغناطیسی: RNA به نانوذرات مغناطیسی متصل می‌شود.
۳. جداسازی با میدان مغناطیسی: نانوذرات حاوی RNA توسط آهنربا از محیط جدا می‌شوند.
۴. شستشو و الوشن (Elution): RNA خالص از نانوذرات جدا شده و در محلول مناسب حل می‌شود.



روش استخراج RNA با استفاده از بیید

مگنتی

- سرعت و دقت بالا
- کاهش آلودگی و دخالت عوامل محیطی

معایب

- هزینه بالای مواد و تجهیزات
- نیاز به دستگاه‌های مغناطیسی خاص

مقایسه کلی روش‌ها

اگر خلوص بالا و سرعت مهم باشد : روش ستونی مناسب است.

اگر بیشترین مقدار RNA نیاز باشد : روش فنل-کلروفرم توصیه می‌شود.

اگر به یک روش خودکار و سریع نیاز باشد : روش مغناطیسی ایده‌آل است.

در آزمایشگاه‌های تحقیقاتی و تشخیصی معمولاً ترکیبی از این روش‌ها بسته به نوع نمونه و هدف پژوهش استفاده می‌شود.

TRIzol چیست؟

ترایزول معرف پرکاربردی در آزمایشگاه‌های زیست‌شناسی مولکولی برای استخراج RNA و به میزان کمتر، DNA و پروتئین است. ترایزول نام تجاری محلولی حاوی گوانیدین تیوسیانات و فنل است که به طور مؤثر سلول‌ها را تخریب کرده و اجزای سلولی را حل می‌کند و امکان جداسازی RNA از DNA و پروتئین را در یک مرحله فراهم می‌سازد. این محصول برای آزمایشگاه‌های فعال در زمینه تحقیقات مولکولی ضروری و بسیار پرکاربرد است.

عملکرد:

ترایزول عمدتاً به عنوان یک عامل لیزکننده عمل می‌کند که پروتئین‌ها را دناتوره می‌کند. فنل و گوانیدین تیوسیانات موجود در ترایزول با هم کار می‌کنند تا سلول‌ها را تخریب کنند، نوکلئازهایی (نوکلئاز آنزیمی است که RNA یا DNA را تجزیه می‌کند) را که باعث تخریب اسیدهای نوکلئیک می‌شوند غیرفعال کرده و جداسازی فاز را تسهیل می‌بخشند. بنابراین می‌توان از ترایزول برای جداسازی RNA به فاز آبی، DNA به فاز بینابینی و پروتئین به فاز آلی استفاده کرد.

ساختار

ترایزول محلولی حاوی گوانیدین تیوسیانات و فنل است. گوانیدین تیوسیانات پروتئین‌ها را دناتوره می‌کند و به ما اطمینان می‌دهد که RNase ها و سایر آنزیم‌ها غیرفعال هستند. فنل که هم آب‌گریز و هم کمی اسیدی است، به جداسازی مؤثر فاز کمک می‌کند که در آن DNA، RNA و پروتئین‌ها با افزودن کلروفرم و سانتریفوژ شدن در لایه‌های مختلف جدا می‌شوند.

نگهداری و حمل و نقل

ترایزول به دلیل وجود فنل و گوانیدین تیوسیانات که هر دو سمی هستند می‌تواند باعث ایجاد سوختگی شود، بنابراین هنگام کار با ترایزول باید بسیار احتیاط کرد.

تجهیزات ایمنی:

همیشه هنگام کار با ترایزول از دستکش، عینک و روپوش آزمایشگاهی استفاده کنید.
برای جلوگیری از استنشاق، زیر هود آزمایشگاهی کار کنید.

نگهداری:

ترایزول باید در دمای اتاق در ظرف دربسته و به دور از نور نگهداری شود. در این شرایط برای چند ماه پایدار است.

کاربرد:
استخراج RNA: ترایزول رایج‌ترین روش برای استخراج RNA با کیفیت بالا است که برای کاربردهای بعدی مانند RT-PCR، northern blotting و تعیین توالی RNA (RNA sequencing) ضروری است.

استخراج DNA: اگرچه کمتر رایج است، اما از ترایزول می‌توان برای خالص‌سازی DNA برای مطالعات ژنومی نیز استفاده کرد.

استخراج پروتئین: بخش پروتئینی به دست آمده از استخراج با ترایزول را می‌توان برای western blotting و سایر تجزیه و تحلیل‌های پروتئومی مورد استفاده قرار داد.



©2019 GENIRANLAB.IR ALL RIGHTS RESERVED



مراحل استخراج RNA با TRizol و عملکرد ترکیبات آن

۱. لیز سلولی و دناتوره کردن پروتئین‌ها
اضافه کردن TRizol به نمونه خون یا سلول‌ها باعث شکستن غشاهای سلولی و هسته‌ای می‌شود. ترکیبات ایزوتیوسیانات گوانیدینیوم و فنل باعث دناتوره شدن پروتئین‌ها از جمله آنزیم‌های RNase می‌شوند که از تخریب RNA جلوگیری می‌کند. ایزوتیوسیانات گوانیدینیوم با از بین بردن پیوندهای هیدروژنی بین پروتئین‌ها، ساختار آن‌ها را تخریب می‌کند. فنل باعث شکستن پیوندهای آب‌گریز پروتئین‌ها شده و آن‌ها را نامحلول می‌کند.

۲. جداسازی فازی (Phase Separation)
افزودن کلروفرم و سانتریفیوژ کردن، مخلوط را به سه فاز تقسیم می‌کند:

- فاز آبی (بالایی): حاوی RNA
- فاز میانی: حاوی DNA
- فاز آلی (پایینی): حاوی پروتئین‌ها و سایر ترکیبات آب‌گریز

کلروفرم یک حلال غیرقطبی است که فنل را به فاز آلی می‌کشاند و RNA را در فاز آبی باقی می‌گذارد.

۳. رسوب‌دهی (Precipitation)

افزودن ایزوپروپانول به فاز آبی، RNA را به صورت رسوبی سفید رنگ در انتهای لوله ته‌نشین می‌کند. ایزوپروپانول با کاهش حلالیت RNA در آب، آن را از محلول خارج کرده و باعث رسوب‌دهی آن می‌شود.

۴. شستشو و خشک کردن

رسوب RNA با اتانول ۷۰٪ شسته می‌شود تا نمک‌ها و ناخالصی‌های باقی‌مانده حذف شوند.

پس از خشک شدن، RNA در آب RNase-free حل می‌شود. اتانول باعث حذف نمک‌های باقی‌مانده از ایزوپروپانول شده و به خالص‌سازی کمک می‌کند.

تکنیک استفاده از TRIZol یکی از روش‌های قدرتمند و پرکاربرد برای استخراج RNA است که به دلیل قدرت بالای حذف RNase، استخراج با کیفیت بالا و قابلیت استخراج هم‌زمان DNA و پروتئین‌ها، در بسیاری از آزمایشگاه‌های تحقیقاتی استفاده می‌شود.

وسائل مواد و تجهیزات مورد نیاز



مواد و محلول‌ها

۱. تری‌زول (TRIzol)

۲. کلروفرم (Chloroform)

۳. ایزوپروپانول (۱۰۰% Isopropanol)

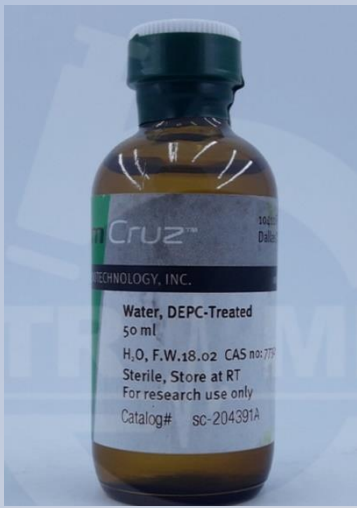
۴. اتانول ۷۰% (Ethanol 70%) (تهیه‌شده از اتانول ۹۶% و آب RNase-free)

۵. آب ارن‌ایز-فری (RNase-free water) برای حل کردن RNA یا DEPS

آب دی‌پس، آبی است که با ماده DEPC (دی اتیل پیرو کربنات) تیمار گردیده سپس با فیلتر، استریل شده است. دی اتیل پیرو کربنات با ایجاد تغییر کووالانسی، آنزیم RNase را غیرفعال می‌کند.

۶. خون کامل (Whole Blood) (با ضد انعقاد EDTA برای جلوگیری از لخته

شدن)



تجهیزات

۱. میکروپیپت (۱۰۰-۱۰۰۰ میکرولیتر و ۱۰-۱۰۰ میکرولیتر)

۲. تیوب‌های میکروسنتریفیوژ (Microcentrifuge tubes, ۱.۵ mL و ۲ mL)

۳. ویال‌های نگهداری RNA (RNA Storage Tubes, RNase-free)

۴. سانتریفیوژ با دور بالا (Centrifuge with cooling system, up to $12,000 \times g$)

۵. بن‌ماری یا انکوباتور ۵۵-۶۰ درجه سانتی‌گراد

۶. دستکش لاتکس یا نیتریل، گان و ماسک (برای جلوگیری از آلودگی با RNase)

روش کار





استخراج RNA-روش ترايزول

(Total RNA)

روش کار

این آزمایش به منظور استخراج RNA کل (Total RNA) از نمونه خون محیطی انسان طراحی شده است.

مرحله لیز سلولی و دناتوراسیون پروتئین‌ها

۱. آماده‌سازی نمونه: ۵۰۰ میکرولیتر خون کامل را در یک تیوب ۱.۵ میلی‌لیتری RNase-free بریزید.

۲. افزودن TRizol: یک میلی‌لیتر TRizol را به نمونه خون اضافه کنید. مخلوط را با پیپت بالا و پایین یا پیپتاژ کنید تا کاملاً همگن شود. به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق بگذارید تا لیز کامل سلول‌ها انجام شود. در این مرحله TRizol با دناتوره کردن پروتئین‌ها و غشاهای سلولی، RNA را آزاد کرده و RNase را غیرفعال می‌کند.

۳. افزودن کلروفرم:

۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم به نمونه اضافه کنید. به مدت ۳۰ ثانیه به دقت و رتکس کنید. به مدت ۵ دقیقه در دمای اتاق انکوبه کنید.

۴. مرحله سانتریفیوژ:

نمونه را به مدت ۱۵ دقیقه در $12,000 \times g$ در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ کنید. پس از سانتریفیوژ، محلول به سه فاز جداگانه تبدیل می‌شود:

- فاز آبی (بالایی): حاوی RNA
- فاز میانی: حاوی DNA
- فاز آلی (پایینی): حاوی پروتئین‌ها کلروفرم باعث جداسازی فازی شده و RNA را در فاز آبی (آبدوست) نگه می‌دارد.

۵. برداشتن فاز آبی:

به آرامی ۴۰۰-۵۰۰ میکرولیتر از فاز آبی را برداشته و به یک تیوب جدید منتقل کنید. دقت کنید که فاز میانی و آلی وارد تیوب جدید نشوند.

مرحله رسوب‌دهی RNA

۶. افزودن ایزوپروپانول:

به فاز آبی استخراج‌شده، ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول (۱:۱) اضافه کنید. تیوب را چند بار برعکس کنید تا کل مخلوط همگن شود. به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار دهید.

۷. مرحله سانتریفیوژ:

به مدت ۱۰ دقیقه در $12,000 \times g$ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ کنید.
یک رسوب سفید رنگ (RNA) در ته لوله تشکیل خواهد شد. ایزوپروپانول حلالیت RNA را کاهش داده و باعث رسوب آن می‌شود.

مرحله شستشو و حل کردن RNA

۸. شستشو با اتانول ۷۰٪:

یک میلی‌لیتر اتانول ۷۰٪ سرد اضافه کنید سپس سانتریفیوژ در $7,500 \times g$ برای ۵ دقیقه در ۴ درجه سانتی‌گراد انجام دهید. مایع رویی را خارج کنید.
نمونه را در هوای آزاد خشک کنید (حدود ۱۰-۵ دقیقه)

۹. حل کردن RNA:

۳۰-۵۰ میکرولیتر آب RNase-free اضافه کنید و در دمای ۶۰-۵۵ درجه سانتی‌گراد برای ۱۰ دقیقه انکوبه کنید.

بررسی کیفیت و کمیت RNA

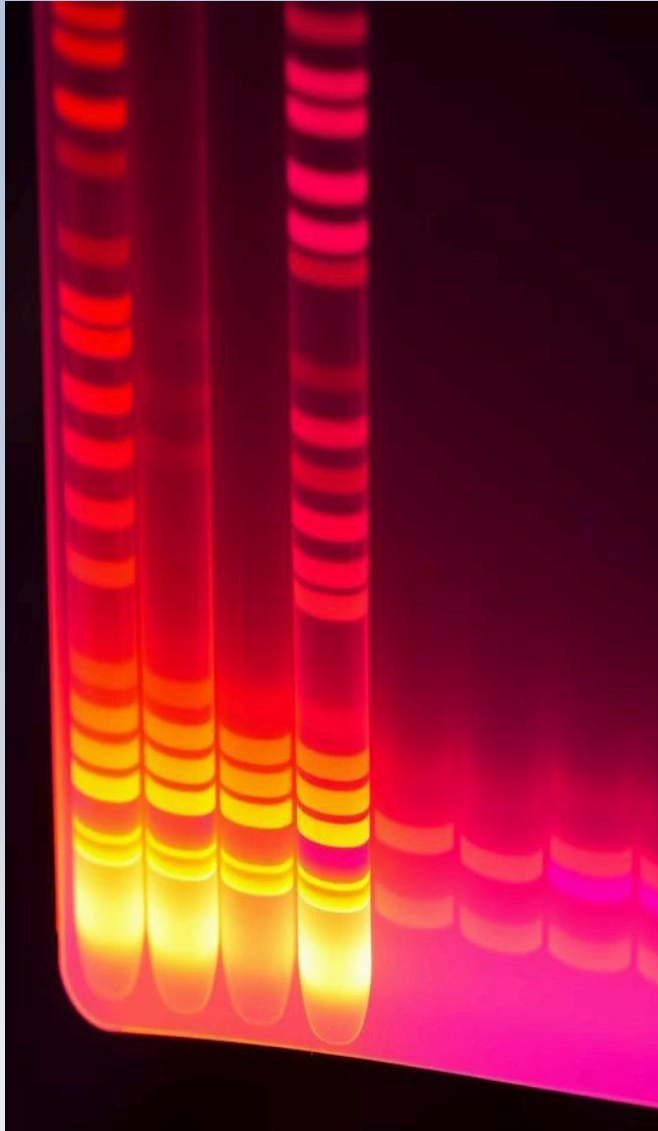
۱. اسپکتروفتومتری (Nanodrop)

نسبت جذب در ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر: مقدار ۱.۸-۲.۰ نشان‌دهنده خلوص بالای RNA است. مقدار کمتر از ۱.۸ نشان‌دهنده آلودگی با پروتئین و بیشتر از ۲.۰ نشان‌دهنده آلودگی با DNA است.

۲. الکتروفورز ژل: وجود باندهای با کیفیت بر روی ژل آگارز نشان‌دهنده خلوص بالای RNA است.



تحلیل نتایج



RNA با خلوص بالا و نسبت ۲۶۰/۲۸۰ مناسب (۱.۸-۲.۰) برای آزمایشات RT-PCR و RNA-seq قابل استفاده است.

اگر رسوب RNA ضعیف باشد، مراحل شستشو و رسوب‌دهی باید بازبینی شوند.

اگر نسبت ۲۶۰/۲۸۰ کمتر از ۱.۸ باشد، احتمال آلودگی با پروتئین یا نمک‌های بافر وجود دارد و نیاز به مراحل شستشوی بیشتر است.

بنابراین روش Trizol یک روش استاندارد و پرکاربرد برای استخراج RNA از خون است که به دلیل قابلیت بالا در حذف RNase و استخراج RNA با بازده زیاد، برای مطالعات مولکولی و بیان ژن در مطالعات مولکولی و ژنتیک کاربرد موثری دارد.