

## Trizol 总 RNA 提取试剂 Trizol Reagent

目录号: QYM0401

### 产品内容

产品成份	QYM0401-100
Trizol 试剂	100 ml

### 自备试剂

氯仿、异丙醇、DEPC-H<sub>2</sub>O、75%乙醇 (用 DEPC-H<sub>2</sub>O 配制)

### 保存条件

室温 (15 ~ 25°C)

### 产品简介

Trizol 是从细胞或组织中提取总 RNA 的即用型试剂, 它的主要成分是苯酚和异硫氰酸胍, 与样品混合后能迅速破碎细胞并迅速抑制外源核酸酶, 可保持 RNA 的完整性。加入氯仿后, 溶液分为水相、中间层和有机相, RNA 在水相中。取出水相, 用无水乙醇或异丙醇沉淀回收水相中的 RNA, 中间层用无水乙醇沉淀可回收 DNA, 有机相用异丙醇沉淀可回收蛋白。Trizol 总 RNA 提取试剂可用于少量样品 (50 ~ 100 mg 组织、5 × 10<sup>6</sup> 细胞), 也可用于大量样品 (>1 g 组织或 >10<sup>7</sup> 细胞), 适用范围广, 对动物、植物和细菌组织都适用。1 小时内可完成实验, 提取的总 RNA 没有 DNA 和蛋白质的污染, 可用于 RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot 等实验。

### 产品特点

1. RNA 完整性好;
2. 纯度高, 回收率高;
3. 方便快捷, 全过程仅需 60 分钟左右。

### 注意事项

1. 经常更换新手套, 因皮肤经常带有细菌, 可能导致 RNase 污染;
2. 使用无 RNase 的塑料制品和枪头, 避免交叉污染;
3. RNA 在 Trizol Reagent 中时不会被 RNase 降解, 但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿, 玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4 h, 塑料器皿可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 min, 然后用水彻底

洗净，再高压灭菌；

4. 配制溶液应使用无 RNase 的水，(将水加到干净的玻璃瓶中，加入 DEPC 至终浓度 0.1% (V/V) 放置过夜，高压灭菌)；

5. 样品应避免反复冻融，否则会影响 RNA 的提取得率和质量。

## 操作步骤

1. 材料处理：

a. 植物组织：取新鲜植物组织在液氮或 Trizol 中充分研磨，每 100 mg 加入 1 ml Trizol，混匀。

b. 动物组织：取新鲜或-70℃冻存动物组织尽量剪碎，每 30 ~ 50 mg 组织加入 1 ml Trizol，匀浆仪进行匀浆处理，或在液氮中研磨后加入 1 ml Trizol，混匀。

c. 单层贴壁培养细胞：吸去培养液，加入适量 Trizol (每 10 cm<sup>2</sup> 加入 1 ml Trizol)，反复吹打使其充分裂解。如果 Trizol 的量不足可能导致 RNA 中有 DNA 污染。

d. 细胞悬液：离心收集细胞。每 5 × 10<sup>6</sup> ~ 1 × 10<sup>7</sup> 个动物、植物和酵母细胞，或每 10<sup>7</sup> 个细菌细胞加入 1 ml Trizol，加入 Trizol 前不要洗涤细胞，以免 RNA 降解。

(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 离心 10 min 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. 室温放置 5 min 使核酸蛋白复合物完全分离。

3. 向以上溶液中加入 0.2 ml 氯仿，盖好管盖，剧烈振荡 15 sec，室温放置 3 min。

4. 4℃，12,000 rpm 离心 15 min，此时样品分成三层：红色有机相、白色中间层和上层无色水相，RNA 主要在水相中，把水相 (约 400 ~ 600 ul) 转移到一个新的无 RNase 的离心管中。

5. 在得到的水相中加入等体积的异丙醇，颠倒混匀，室温放置 10 min。

6. 4℃，12,000 rpm 离心 10 min，弃上清。

7. 加入 75%的乙醇 (用无 RNase 的水配制) 洗涤沉淀，每使用 1 ml Trizol 用 1 ml 75%乙醇对其进行洗涤。

8. 4℃，12,000 rpm 离心 2 min，小心吸弃上清，注意不要吸弃 RNA 沉淀。

(注意：剩余的少量液体可短暂离心，然后用枪头吸出，不要吸弃沉淀)

9. 室温放置 2 ~ 3 min，晾干。加入 30 ~ 100 ul 无 RNase 的水，充分溶解 RNA，得到的 RNA 保存在 -70℃，以防降解。

(注意：沉淀不要过分干燥，以免难于溶解)