

版本号: FRI1801

TRizol Reagent

TRizol 总 RNA 提取试剂

目录号: FR901

产品内容:

产品组成	FR901
TRizol Reagent	110 ml
RNase Free ddH ₂ O	15 ml
1.5 ml RNase Free Microcentrifuge Tubes	50 个

储存条件:

TRizol Reagent 室温运输。收到试剂后请于2-8℃ 保存, 保质期一年。

自备材料:

氯仿、异丙醇、RNase-Free ddH₂O、75%乙醇 (用RNase-Free ddH₂O配制)。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介：

TRIzol 是基于异硫氰酸胍/苯酚法开发的一种新型含有指示剂的总 RNA 提取试剂,适用范围广泛,可以从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中提取总 RNA。在样品裂解或匀浆过程中, TRIzol 可以保证 RNA 的完整性,加入氯仿离心后,溶液会分成三层:上层无色水相、中间层和下层粉色有机相。RNA 存在于上层水相中,经过异丙醇沉淀便可以收到得到。提取的总 RNA 纯度高,可用于 RT-PCR、Real-Time RT-PCR、Northern blot、芯片分析等下游实验。

TRIzol 试剂提取 RNA 得率高,既可用于小量的样品(50-100 mg)和细胞(5×10^6),也可用于大量的组织(>1 g)和细胞(> 10^7)。使用该试剂提取总 RNA 步骤简单,方便同时处理大量不同样品,所有操作均可以在一小时之内完成。

注意事项：

1. 提取的样品避免反复冻融,否则影响 RNA 提取得率和质量。
2. 本品中含有苯酚,具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会导致中毒、灼伤以及其他身体伤害。使用本制品时应穿戴防护物品,如防护服装、手套、眼罩、面罩等。如果不小心接触到眼睛,应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。
3. 样品用 TRIzol 匀浆后,可保存在-70℃条件下一个月以上,对提取 RNA 无明显影响。
4. 保存在 75%乙醇中的 RNA,可在 2-8℃保存一周,-20℃条件下保存 1 年。

操作步骤：

需要准备的试剂：

1. 匀浆处理
 - a. 动物组织:取新鲜或-70℃冻存动物组织尽量剪碎,每 10-100 mg 组织加入 1 ml TRIzol,立即用研磨杵或匀浆器进行充分匀浆。动物组织样品也可以用液氮研磨(参照植物处理方法)。
 - b. 植物组织:取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在 TRIzol 中迅速研磨,每 100 mg 植物组织加入 1 ml TRIzol,充分振荡混匀。
 - c. 贴壁细胞:彻底吸弃培养液,每 10 cm² 面积需要 1 ml TRIzol,用移液器吹打 3-5 次使细胞裂解。
 - a. 细胞悬液:500 x g 离心收集细胞,每 5×10^6 - 1×10^7 动物、植物和酵母细胞或每 10^7

细菌细胞加入 1 ml TRIzol, 充分振荡混匀。

注意: 加入 TRIzol 前不要洗涤细胞, 以免降解 mRNA。一些酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪处理。如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖或肌肉、植物结节部分等, 可离心去除。离心得到的沉淀中包括细胞外膜、多糖、高分子量 DNA, 上清中含有 RNA。处理脂肪组织样品时, 上层是大量油脂, 应除去。取澄清的匀浆溶液进行下一步操作。

2. 室温放置 3-5 min, 使得核酸蛋白复合物完全分离。
3. 按照每 1 ml TRIzol 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°C 12,000 rpm 离心 15 min, 此时样品会分成三层: 粉色的有机相, 中间层和上层无色的水相, RNA 主要在水相中。
5. 把水相 (约 500 μ l) 转移到一个新的 RNase Free 离心管中, 加入等体积异丙醇, 颠倒混匀, 室温放置 10 min。
6. 4°C 12,000 rpm 离心 10 min, 去上清。
7. 加入 70%乙醇 (用 RNase Free 水配制, 试剂盒提供) 洗涤沉淀。每使用 1 ml TRIzol 至少用 1 ml 70%乙醇对沉淀进行洗涤。
8. 4°C 12,000 rpm 离心 5 min, 小心吸弃上清, 注意不要吸弃 RNA 沉淀。

注意: 吸弃上清液后, 若管壁上仍残留较多的液体, 短暂离心收集管壁上的液滴, 用 10-100 μ l 的枪头吸弃残液。

9. 室温放置 5-10 min, 晾干。加入 30-100 μ l RNase Free ddH₂O, 充分溶解 RNA。

注意: RNA 溶液请于-70°C保存。