

版本号：FRI1801

TRIzol Reagent

TRIzol 总 RNA 提取试剂

目录号：R901

产品内容：

产品组成	R901
TRIzol Reagent	100 ml

储存条件：

TRIzol Reagent可在室温下运输，收到后请保存于（2-8）℃。

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（ $>1\text{ g}$ ）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°C 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 $2-8^\circ\text{C}$ 保存一周， -20°C 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°C 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 cm^2 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，每 $5 \times 10^6-1 \times 10^7$ 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。