

## Trizol (总 RNA 提取试剂)

### 包装清单

| Cat No.  | 组分        | 包装规格-100mL |
|----------|-----------|------------|
| MCR-0001 | Trizol 试剂 | 100mL      |
|          | 说明书       | 1 份        |

### 产品简介

Trizol 是一种用于细胞或组织总 RNA 抽提的试剂，本产品采用和 Invitrogen 公司的 TRIzol 完全相似的原理和方法，抽提的方法和步骤完全相同。

Trizol 的颜色和 TRIzol 相同，加入氯仿后上层呈无色，下层呈紫红色，便于吸取上层水相。

Trizol 对动植物细胞或组织及细菌的总 RNA 抽提均适用。

Trizol 可以抽提长达 15 kb 的 RNA，也可以抽提 microRNA 等小 RNA。抽提小 RNA 时宜-70℃沉淀过夜。

Trizol 抽提所得 RNA 无 DNA 和蛋白污染。一般所得 RNA 溶于 DEPC 水后的 A260/280 值为 1.8-2.0。

裂解细胞或组织共匀浆时，Trizol 可以保持样品中 RNA 的完整性，即可以有效抑制 RNA 的降解。每一百万细胞用 Trizol 抽提可得 5-15  $\mu$ g RNA；每毫克组织用 Trizol 抽提可得 1-10  $\mu$ g RNA。产量因细胞和组织不同而异。抽提两个样品约需一小时。

Trizol 抽提所得 RNA 可直接用于 Northern，点杂交，纯化 mRNA，体外翻译，RNase protection assay，cDNA 克隆，以及 RT-PCR；也可以用于基因表达芯片分析、高通量测序(deep sequencing)等对 RNA 质量要求较高的情况。

每 100ml Trizol 可以抽提 100 个六孔板中的样品或 100 个 50-80mg 的组织样品。

### 保存条件

4℃保存，有效期一年。

### 注意事项

- 需自备氯仿，异丙醇，DEPC，75%乙醇(DEPC 水配制)，和 DEPC 水。
- 所有离心管，枪头及相关溶液都必须无 RNA 酶污染。耐高温器物可 150℃烘烤 4 小时以去除 RNA 酶，其它器物去除 RNA 酶可考虑用 0.01% 的 DEPC 水浸泡过夜，然后灭菌，烘干。溶液需用 DEPC 水配制。加 0.01%(体积比) diethylpyrocarbonate(DEPC)至重蒸水或 Milli-Q 级水中，处理过夜，灭菌即成 DEPC 水。
- 建议使用新鲜的样本进行总 RNA 抽提，因为在细胞或组织冻融过程中一些细胞或组织内的 RNase 会被释放出来并剪切。如果不能及时抽提 RNA，推荐先加入适量 Trizol，并裂解样品后冻存。
- 为防 RNA 酶污染，实验过程必须戴一次性手套操作，且尽量不要对着 RNA 样品呼气或说话，建议戴一次性口罩操作。
- Trizol 含有毒物质苯酚，避免接触皮肤或吸入。为防止溅入眼睛，请戴防护眼镜或使用透明保护屏。如皮肤接触 Trizol，请立即用大量去垢剂和水冲洗，如仍有不适，请听取医生意见。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

### 使用说明

#### 1.细胞裂解或组织匀浆：

(1) **贴壁细胞：**吸尽培养液，每  $10 \text{ cm}^2$  细胞加入 1 mL Trizol。一般六孔板每孔加 1 mL Trizol，12 孔板每孔加 0.5 mL Trizol。晃动 3-5 下，再用枪吹打 2-3 下，确保全部裂解，然后吸至离心管中。

(2) **悬浮细胞：**离心收集细胞，吸尽液体，每  $5 \times 10^6$  -  $10^7$  动物、植物和酵母细胞或每  $10^7$  细菌细胞加入 1 mL Trizol。用枪吹打或适当 vortex，确保全部裂解。某些酵母和细菌如裂解不充分，可用匀浆器匀浆，确保全部裂解。

(3) **组织：**先将组织剪切成小块放入普通玻璃匀浆器内。每 50 mg-80 mg 组织加入 1mL Trizol，匀浆。对于 RNA 完整性要求较高的情况，推荐先液氮冷冻组织块，然后在低温下用研钵研碎组织，随后再加入 Trizol 进行总 RNA 抽提。

2.对于某些蛋白，多糖或脂含量很高的细胞或组织，Trizol 裂解后可能会有不溶物或油脂状漂浮物。需 12,000g 4℃离心 10 分钟，然后吸取澄清的 Trizol 裂解产物至新的离心管中。

3.室温放置 5 分钟，使样品充分裂解。

4. 每毫升 Trizol 加入 0.2mL 氯仿，vortex 混匀或猛烈晃动 15 秒，室温放置 2-3 分钟。

5. 12,000g 4℃离心 15 分钟，然后吸取含总 RNA 的上层无色水相至新的离心管中，每毫升 Trizol 约可吸取 0.5-0.55mL。

6. 按每毫升最初的 Trizol 加入 0.5mL 异丙醇，颠倒数次混匀，室温沉淀 10 分钟。如果希望提取 microRNA 等小 RNA，推荐-70℃沉淀过夜。

7. 12,000g 4℃离心 10 分钟，在管底可见 RNA 沉淀，弃上清。

8. 每 mL 最初的 Trizol 加入 1mL 75%乙醇(DEPC 水配制)，vortex 或颠倒混匀，



默科南京

Hotline: 025-69867707

9. 7,500g 4℃离心 5 分钟，弃上清。再用离心机甩一下 (>5,000rpm, 离心 1 秒)，小心吸尽液体。

10. 待 RNA 略干后，加入 20 $\mu$ L DEPC 水溶解，-70℃冻存。

**注意：**切勿让 RNA 过分干燥，否则将极难溶解，且测出的 A260/280 值会低于 1.6。