



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。

裂解细胞或和组织共匀浆时, 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 μ g RNA; 每毫克组织用 Trizol 抽提可得 1-10 μ 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 cm² 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 5×10⁶ -10⁷ 动物、植物和酵母细胞或每 10⁷ 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 裂解产物至一新的离心管中。

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 的上层无色水相至一新的离心管中, 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 20μL 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。