

Trizol (总 RNA 提取试剂)

Trizol Reagent

产品信息

货 号	规 格
RM0101	100mL

保存条件

2-8°C, 避光保存, 有效期 18 个月

产品介绍

总 RNA 提取试剂是直接从事动植物细胞或组织及细菌中提取总 RNA 的试剂。它在破碎和裂解细胞时能保持 RNA 的完整性。获得的 RNA 可直接用于 Northern 杂交, RNase 保护实验, RT-PCR 以及 cDNA 克隆等一系列操作。该试剂可用于 100 次总 RNA 提取 (10 平方厘米细胞或 100mg 组织)。

操作说明

* 自备新开封氯仿, 异丙醇, 75%乙醇, DEPC 处理水。

1. 细胞裂解或组织匀浆:

1) 贴壁细胞: 吸尽培养液, 每 10 平方厘米 (6 孔板孔或 35 mm 平皿) 细胞加入 1 mL 总 RNA 提取试剂使其覆盖培养细胞, 再用吸管或加样器吹打 2~3 次, 细胞应完全裂解, 然后转移至离心管中。

2) 悬浮细胞: 离心收集细胞, 吸尽液体, 每 5×10^6 - 1×10^7 个动植物或酵母细胞, 或 1×10^7 细菌, 加入 1mL 总 RNA 提取试剂。用吸管或加样器吹打, 使其完全裂解。某些酵母和细菌如裂解不充分, 可用匀浆器匀浆, 以确保其完全裂解。转移至离心管中。

3) 组织: 先将组织剪切成小块, 放入玻璃匀浆器内。冷冻组织可在研钵中研磨匀浆。每 50-100mg 组织加入 1mL 总 RNA 提取试剂, 匀浆至完全裂解。转移至离心管中。裂解产物应呈澄清的透明粘稠液体。室温放置 5 分钟。对于多糖、蛋白等杂质丰富的组织样品, 匀浆后仍会存留有不溶物质, 可 12000g 4°C 离心 10 分钟, 然后吸取上清至一新的离心管中。

2. 分离: 在装有裂解物的离心管中加入 0.2 倍体积的氯仿 (1 mL 总 RNA 提取试剂加入 0.2 ml 氯仿), 振荡器上充分振荡混匀 30 秒, 室温放置 2-3 分钟。12000g 4°C 离心 10 分钟, 然后吸取含总 RNA 的上层水相至一新的离心管中, 每毫升总 RNA 提取试剂约可吸取 0.5-0.6 ml。有机相和中间层含有 DNA 和蛋白质, 应避免触及。

3. 沉淀: 按每毫升总 RNA 提取试剂加入 0.5 ml 异丙醇, 颠倒数次混匀, 室温沉淀 10 分钟。12000g 4°C 离心 10 分钟, 在管底可见 RNA 沉淀。弃上清, 按每毫升总 RNA 提取试剂加入 1 mL 75%乙醇, 轻轻颠倒混匀, 以清洗 RNA 沉淀。12000g 4°C 离心 2 分钟, 弃去液体, 小心勿丢弃 RNA 沉淀。室温倒置晾干

5~10 分钟。

4. 溶解：加入适量 DEPC 处理水使 RNA 沉淀溶解。存放于-80℃。

注意事项

1. RNA 提取过程中所用器皿、离心管、吸头等应保证无污染无 RNA 酶。操作中应小心，防止外源性 RNA 酶污染样品导致 RNA 样品降解。
2. 试剂中含有酚等有害物质，注意个人防护。