



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，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。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 mg 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 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 $^{\circ}$ C 沉淀过夜。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 $^{\circ}$ C 保存，有效期 1 年。

注意事项

1. 需自备氯仿，异丙醇，DEPC，75%乙醇(DEPC 水配制)，和 DEPC 水。
2. 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 $^{\circ}$ C 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。
3. 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。
4. 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。
5. 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。
6. 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。
7. 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 $\times$ 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 完整性要求比较高的情况，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 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 沉淀过夜。
 7. 12,000g 4 $^{\circ}$ C 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，
 9. 7,500g 4 $^{\circ}$ C 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 μ L DEPC 水溶解，-70 $^{\circ}$ C 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。