

Trizol (总 RNA 提取试剂)

产品组分

产品编号	产品名称	产品规格	储存条件
M00501-100	Trizol (总 RNA 提取试剂)	100ml	2-8°C 避光保 存 12 个月
M00501-250		250ml	
M00501-500		500ml	

产品简介

该产品是一种即用型，适用于细胞或组织总 RNA 提取的含有指示剂的试剂。该产品的作用原理采用与 Invitrogen 公司的 TRIzol 相似的原理和方法，主要成分为苯酚和异硫氰酸胍等，提取步骤和方法也相同。指示剂的颜色也与 TRIzol 的颜色一致，加入氯仿后离心分层，形成上清层、中间层和有机层，上层水相（含 RNA）呈无色，下层有机相呈紫红色。RNA 经异丙醇沉淀便可得到总 RNA。该产品具有极强的裂解能力，可以短时间内裂解细胞和组织样本，并有效抑制样本中 RNA 的降解，保持 RNA 的完整性。提取的 RNA 可直接用于多种分子生物学实验，比如 RT-PCR, Northern blot, 体外翻译、cDNA 克隆、RNase 保护实验以及高通量测序等对 RNA 质量要求较高的情况。

使用注意事项

1、本产品中含有苯酚，具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会引起中毒、灼伤及其他身体伤害。使用时应穿戴防护服装、手套、面罩等防护物。如果不小心接触到眼睛时，应立即用大量水冲洗然后前往医院进行治疗。

2、请穿实验服并佩戴一次性手套进行实验操作，避免 RNase 污染。

3、使用 RNase-free 的塑料制品和枪头避免交叉污染；所有离心管及相关溶液都必须无 RNA 酶污染。

4、请自备氯仿、异丙醇（新开封或提取 RNA 专用）、75%乙醇（DEPC 处理水配制）、DEPC 和 DEPC 处理水。

5、使用冻存的细胞或组织抽提总 RNA 的效果通常会比新鲜的细胞或组织差一

些，因为冻存过程中细胞或组织内的 RNase 会被释放出来并剪切样品。推荐：如果不能及时抽提 RNA，先加入适量 Trizol 试剂，裂解样品然后再冻存，这样 RNase 就不会降解样品。

6、样品匀浆后，加入氯仿前，可在-80°C 冻存放置一个月。

7、RNA 沉淀可以保存在 75%乙醇中，2-8°C 放置一周或-20°C 放置一年。

8、该试剂盒仅限于专业人员的科学研究使用，不得用于临床诊断或治疗，更不得用于食品或药品中。

实验步骤

1、细胞裂解或组织匀浆：

a. 贴壁细胞：吸尽培液，按照比例加入 Trizol 消化细胞，即每 10 平方厘米细胞中加入 1 ml Trizol，六孔板每孔加 1 ml Trizol，12 孔板每孔加 0.5 ml Trizol。晃动 3-5 下，再用移液器反复吹打几下，确保细胞全部裂解，然后将溶液转移至离心管中。【注】加入 Trizol 量不足时，会导致 DNA 污染。

b. 悬浮细胞：离心收集细胞，吸尽液体，每 5×10^6 - 1×10^7 个细胞加入 1ml Trizol，再用移液器反复吹打。【注】加入 Trizol 前应避免洗涤细胞，会增加 mRNA 降解的可能性。

c. 动、植物组织：取-80°C 冻存的组织在液氮中充分研磨后加入适量的 Trizol 混匀；或者取新鲜动物或植物组织尽量剪碎，然后加入适量的 Trizol 进行匀浆处理。

2、将匀浆样品剧烈震荡后在室温条件下放置 5 分钟以使核蛋白体完全裂解。【注】此步不能省略，时间可以长于 5 分钟。

3、（可选步骤）4°C，12000rpm 离心 10 分钟，取上清。【注】如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖等可离心除去。离心得到的沉淀中包括细胞外膜、多糖、高分子量的 DNA 等物质，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，然后再取澄清的匀浆溶液进行下一步的操作。

4、每毫升 Trizol 加入 0.2ml 氯仿，Vortex 混匀或剧烈晃动 15 秒，室温放置 3 分钟。

5、4°C，12000rpm 离心 15 分钟，样品会分成三层：上层无色的水相、中间蛋

白层和紫红色的下层有机相。然后吸取含总 RNA 的上层无色水相至一新的 RNase-free 的离心管中。

6、按照每毫升最初的 Trizol 加入 0.5 ml 异丙醇的比例，颠倒数次混匀，室温沉淀 10 分钟，或者-20°C 沉淀 30 分钟，或-70°C 沉淀过夜。【注】如果希望提取 microRNA 等小 RNA 时，推荐使用低温长时间的沉淀，来获得最佳效果。

7、4°C，12000rpm 离心 10 分钟，在管底可见 RNA 沉淀，弃上清。【注】纯度越好的 RNA 沉淀会在管侧和管底形成透明胶质状，不容易看清楚。

8、按照每毫升最初的 Trizol 加入 1 ml 75%乙醇 (DEPC 水配制) 的比例，Vortex 混匀或颠倒混匀，让沉淀悬浮起来以充分洗涤沉淀中的盐分。

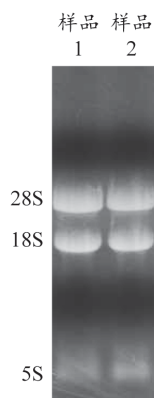
9、4°C，12000rpm 离心 5 分钟，弃上清。剩余的少量液体再用离心机瞬甩一下，彻底去掉上清液。注意不要吸到沉淀，否则会造成 RNA 损失。

10、室温放置空气干燥 5-10 分钟，待 RNA 沉淀略干后，加入适量 (约 20-100 μ l) 的 RNase-free 水溶解 RNA 沉淀，-80°C 冻存。【注】切勿让 RNA 彻底干燥，否则将导致 RNA 溶解度降低。

产物检测

1、RNA 完整性检测

取 1 μ l RNA 加入适当 RNA loading buffer，混匀，进行电泳检测。若出现清晰的三条带，分别为 28S、18S 和 5S，且条带之间界限清晰，就证明 RNA 样品的完整性非常好。可参考以下图示：



2、RNA 纯度检测

利用分光光度计或者 NanoDrop 仪检测 RNA 样品在 260nm、280nm 处的 OD 值，并计算 A260/A280 的比值。纯的 RNA 的比值应在 2.0 左右。

常见问题分析

1、提取到的 RNA 得率很低。

可能的原因如下：

- 1、样品裂解或匀浆处理不彻底。
- 2、RNA 沉淀条件和时间太短，没有充分沉淀 RNA 造成 RNA 损失。
- 3、最后得到的 RNA 沉淀未完全溶解。

2、RNA 降解

可能的原因如下：

- 1、组织取出后没有马上进行处理或冷冻，导致 RNase 的释放降解样品中的 RNA。
- 2、贴壁细胞在胰蛋白酶处理时被破坏。
- 3、样本量太大而加入的 Trizol 液少，导致裂解不完全，不能有效抑制 RNase 的活性，进而导致 RNA 降解。
- 4、提取过程中使用的溶液、离心管或枪头未经 RNase 去除处理。
- 5、RNA 沉淀没有保存于 -80°C。
- 6、RNA 电泳时的电泳液及电泳槽中含有 RNase，或者电泳时电泳液温度过高，造成 RNA 样品被降解。

3、蛋白和多糖污染

可能的原因如下：

- 1、样品中蛋白和多糖含量高，建议加入氯仿之前先高速离心去除蛋白和多糖。
- 2、吸取上层无色水相时不小心吸入一些中间蛋白层的物质，建议将移液枪头中的液体放回分层的离心管中，重新进行离心后再小心吸取上层水相即可。
- 3、样品量太大，裂解不完全也会导致 RNA 样品中蛋白和多糖污染。

4、A260/A280 的比值低于 1.65

可能的原因如下：

- 1、RNA 样品溶于 TE 溶液，低离子浓度和低 pH 条件下，A280 的数值会较高，导致比值低。
- 2、样品匀浆时加的 Trizol 试剂量太少。
- 3、匀浆后样品未在室温放置 5 分钟，会导致蛋白的析出不完全，也会增加 A280 的数值。
- 4、最后得到的 RNA 沉淀溶解不完全。

相关产品列表

产品	货号
SmartQuant cDNA synthesis Kit (with gDNase)	M01301
2×SYBR Green qPCR Master Mix (with High Rox)	M00601

上海东寰生物科技有限公司

SHANGHAI DONGHUAN BIOTECH CO., LTD

公司网址: www.dhbiotech.com QQ 咨询: 3295258699

电话咨询: 021-39965016 邮箱: market@dhbiotech.com