

CAT#: GZ0123070-100



总 RNA 提取试剂

使用手册 V1.0

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

产品及特点

本试剂是直接从细胞或组织中提取总 RNA 的试剂，广泛适用于从各类动物组织、植物材料、培养细胞、细菌等样品中提取总 RNA。本产品在破碎和溶解细胞时能保持 RNA 的完整性。加入氯仿后离心，样品分成水样层和有机层，RNA 存在于水样层中。收集上面的水样层后，RNA 可以通过异丙醇沉淀来还原。在除去水样层后，样品中的 DNA 和蛋白也能相继以沉淀的方式还原。乙醇沉淀能析出中间层的 DNA，在有机层中加入异丙醇能沉淀出蛋白。共纯化 DNA 对于样品间标准化 RNA 的产量十分有用。

重要提示：

1. 本品中含有苯酚，具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会导致中毒、灼伤以及其他身体伤害。使用本制品时应穿戴防护物品，如防护服装、手套、眼罩、面罩等。如果不小心接触，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。

成分规格

成分	GZ0123070-100
Trizol (4°C 避光)	100ml

保存条件

Trizol 在室温下能稳定保存 12 个月。尽管如此，为达到最佳效果，我们建议保存在 2~8°C 的环境下。

使用方法

自备试剂

异丙醇（新开封或提取 RNA 专用）、氯仿、75%乙醇(用 RNase free H₂O 配制)、RNase free H₂O 或者 DEPC-H₂O。

RNA 抽提操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

提示：用 Trizol 抽提 RNA 时要戴手套和护眼罩。避免接触皮肤和衣服。在化学通风橱完成操作。避免呼吸道吸入。如无特殊说明，所有的操作应该在 15~30°C 的室温条件下！

1. 样本处理:

a. 组织: 取新鲜或-70℃冻存动物组织尽量剪碎, 每 50-100 mg 组织加入 1 ml Trizol, 匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入适当体积的 Trizol 混匀, 匀浆化时组织样品容积不能超过 Trizol 容积的 10%。

b. 单层培养细胞: 尽量去除干净残留培养液后, 直接往直径 3.5 cm 的培养板中加入 1 ml Trizol 覆盖并反复吹打裂解细胞。依据培养板的面积而不是依据细胞的数量来决定所需的 Trizol 量 (每 10 cm² 加 1 ml)。当 Trizol 量不足时可导致抽提的 RNA 中污染有 DNA。

(注意: 贴壁培养细胞往往不能完全从培养瓶(皿)脱落, 这并不意味着裂解不完全, 此时细胞膜实际已经完全破裂开, 并已释放出全部 RNA, 继续做即可。)

c. 细胞悬液: 离心收集细胞。在 Trizol 中用移液管反复吹打来裂解细胞。每 5-10×10⁶ 的动物细胞, 植物细胞或酵母细胞或每 1×10⁷ 细菌加 1 ml Trizol。在加入 Trizol 前应避免洗涤细胞, 因为那样会增加 mRNA 降解的可能性。破裂某些细菌和酵母菌可能需要使用匀浆器。

(注意: 当样品富含蛋白质, 脂肪, 多糖或是细胞外物质例如肌肉, 脂肪组织和植物的块茎部分时可能需要一额外的分离步骤。匀浆化后在 2~8℃ 的条件下以 12,000×g 的离心力离心 10 分钟, 移除匀浆中不溶解的物质, 余下的沉淀中包含有细胞外膜, 多糖, 以及高分子量 DNA, 而上层的超浮游物含有 RNA。在来自于脂肪组织的样品中, 大量的脂肪漂在最上层因而应该除掉。在每一个个案中, 将清亮的匀浆溶液转移到一干净的试管中加入氯仿并继续进行下述的分离步骤。)

2. 将匀浆样品在 15 -30℃ 条件下孵育 5 分钟以使核蛋白体完全分解。每 1ml Trizol 加 0.2ml 氯仿。

3. 盖紧样品管盖, 用手用力摇晃试管 15 秒并将其在室温下孵育 2~3 分钟。在 2~8℃ 下, 以不超过 12,000×g 的离心力高速冷冻离心 15 分钟。

(注意: 离心后混合物分成三层: 下层苯酚-氯仿层, 中间层, 上层无色的水样层。RNA 无一例外地存在于水样层当中。水样层的容量大约为所加 Trizol 容量的 60%。)

4. 将水样层转移到一干净的试管中, 如果希望分离 DNA 和蛋白, 有机层同样要予以保留。通过将水样层和异丙醇混合来沉淀 RNA。最初均化时的每 1ml Trizol 对应 0.5ml 异丙醇。

5. 将混合的样品在 15 -30℃ 条件下孵育 10 分钟, 并在 2~8℃ 下以不超过 12,000×g 的离心力高速冷冻离心 10 分钟。RNA 沉淀在离心前通常不可见, 形成一胶状片状沉淀附

着于试管壁和管底。

6. 移去上层悬液。用 75%的乙醇洗涤 RNA 沉淀一次,每 1ml 的 Trizol 至少加 1ml 的 75%乙醇。
7. 旋涡振荡混合样品,并在 2~8°C 下,以不超过 7,500×g 的离心力高速冷冻离心 5 分钟。
8. 在操作的最后,简单干燥 RNA 沉淀(空气干燥或真空干燥 5~10 分钟)。

(注意:不要在真空管里离心干燥 RNA。尤为重要,不能让 RNA 沉淀完全干燥那样会极大地降低其可溶性。部分溶解的 RNA 样品其 A260/280 比值<1.6。用移液管尖分几次移取无 RNA 酶的水或 0.5%SDS 溶液来溶解 RNA(当 RNA 以后要用于酶切反应时,避免使用 SDS。)RNA 还能被 100%甲酰胺(去离子)再溶解并保存在-70°C。)

注意事项:

- RNA 最重要的指标就是没有降解完整性高,目前普通的分光光度计包括 Nanodrop 等是无法通过测量 OD260/280 和 OD260/230 来确认 RNA 是否降解的。判断 RNA 是否降解可以通过跑 1%琼脂糖电泳检测,通过直接观察 28S:18S 比值来判断是否降解,或者用采用安捷伦 Bioanalyzer2100 仪器检测,测定 RNA 产物的 RIN 值。
- Trizol 的适用范围很广。绝大部分常规动物组织细胞(如:肝脏、肾脏、脑组织、培养细胞)、简单植物组织(如水稻、玉米、拟南芥、烟草、小麦等)都有良好效果。但是对于多糖多酚植物如棉花,某些难破壁的细菌等样品不适用。
- 在匀化后和加入氯仿之前,样品可以在-60~-70°C 保存至少一个月。RNA 沉淀(步骤 6, RNA 漂洗)溶于 75%的乙醇在 2~8°C 至少可以保存一周,在-5~-20°C 下至可保存一年。

关联产品

产品编号	产品名称
GZ070101-500	GeneRed 核酸染料
GZ070102-500	Geneblue 核酸染料
GZ080501	RNAlocker 非冻型血液 RNA 保存液
GZ080502	RNAlocker 非冻型组织 RNA 保存液
GZ0733140	RNA 高灵敏度测定试剂盒
GZ0123070-100	总 RNA 提取试剂 (TRIzol)
GZ020101-1	2×Taq PCR MasterMix (含染料)
GZ020701-1	2 × Probe qPCR Mix
GZ020801-1	2×SYBR qPCR Mix
GZ020302-50	cDNA 第一链合成试剂盒(去除基因组)
GZ020303-50	一管式 cDNA 第一链合成试剂盒(去除基因组)

常见问题与建议：

常见问题	建议
每 1mg 组织或 1×10^6 培养细胞预期的 RNA 产量	*肝和脾，6~10μg *肾，3~4μg *骨骼肌和脑组织，1~1.5μg *胎盘，1~4μg *上皮细胞(1×10^6)，8~15μg *纤维母细胞(1×10^6)，5~7μg
抽提得率低	*样品均化或裂解不完全。 *终 RNA 不完全再溶解。
A260/A280 比率<1.65	*在分光光度计测量前用水而不是用 TE 缓冲液稀释 RNA 样品。低离子强度和低 pH 溶液会增加 280nm 处的光吸收值。 *样品匀浆化时所加的 Trizol 量太少。 *匀浆化后样品没有在室温下放置 5 分钟。 *分离的水样层中污染有苯酚层。 *终 RNA 没有完全溶解。
RNA 降解	*从动物体取下的组织没有立即进行抽提或冰冻保存。 *用于抽提的样品，或抽提的 RNA 样品保存于-5~-20°C，而不是存放于-60~-70°C。 *细胞经胰酶消化而分散。 *水溶液或试管污染有 RNA 酶。
DNA 污染	*样品匀浆化时所加的 Trizol 量太少。 *用于抽提的样品包含有机溶媒（例如，乙醇，DMSO），强缓冲液，或碱性溶液。



关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯