

Trizol 试剂

Catalog Number	Vial Size
SG1001	50ml

储存条件: 4℃, 一年内有效。

适用范围: 动植物组织, 细胞



天津三箭生物技术股份有限公司
Tianjin Sungene Biotech Co., Ltd.
精准 高效 稳定 Precision Efficient Stable

Market | 400-621-0003
marketing@sungenebiotech.com

Support | 022-66211636-8024
techsupport@sungenebiotech.com

Web | www.sungenebiotech.com

产品简介

Trizol 试剂是直接从小细胞或组织中提取总 RNA 的试剂。它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。

无论是人、动物、植物还是细菌组织, 该方法对少量的组织 (50-100mg) 和细胞 (5×10^6) 以及大量的组织 ($\geq 1g$) 和细胞 ($>10^7$) 均有较好的分离效果。Trizol 试剂操作上的简单性可以同时处理多个的样品。所有操作可在一小时内完成。Trizol 抽提总 RNA, 同时能够避免 DNA 和蛋白的污染。因此可以作 RNA 印迹分析、斑点杂交、poly(A)+ 选择、体外翻译、RNA 酶保护分析和分子克隆。如果是用于 PCR, 当两条引物位于单一外显子内时, 建议用扩增级的 DNase I 来处理抽提的总 RNA。

Trizol 试剂能促进不同种属不同分子量大小的多种 RNA 的析出。例如, 从大鼠肝脏抽提的 RNA 琼脂糖凝胶电泳并用溴化乙啶染色, 可见许多介于 7 kb 和 15 kb 之间不连续的高分子量条带 (mRNA 和 hnRNA 成分), 两条优势核糖体 ~5 kb (28S) 和 ~2 kb (18S), 低分子量 RNA 介于 0.1 和 0.3 kb 之间 (tRNA, 5S)。当抽提的 RNA 用 TE 稀释时其 A260/A280 比值 ≥ 1.8 。

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) DEPC 至重蒸水中, 处理过夜, 灭菌即成 DEPC 水。

- 使用冻存的细胞或组织抽提总 RNA 的效果通常比新鲜的细胞或组织差一些。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样品。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。

- 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, 以防 RNA 酶污染。

- 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。

RNA 提取步骤

1. 匀浆

• 组织

每 50-100mg 组织样品中加入 1ml 的 Trizol 试剂, 用匀浆机或玻璃棒匀浆。组织样品的体积不要超过使用 Trizol 试剂体积的 10%。

• 单层培养细胞

在一个直径 3.5cm 的培养皿中加入 1ml Trizol 试剂, 使细胞溶解, 用移液器反复吸打细胞溶液。加入的 Trizol 试剂的量由培养皿的表面积决定 (每 10cm² 加入 1ml 试剂)。若 Trizol 试剂的量少, 提取的 RNA 可能会中含有 DNA。

• 悬液中培养细胞

离心收集细胞, 加入 Trizol 试剂溶解细胞。每

Trizol 试剂

Catalog Number	Vial Size
SG1001	50ml

储存条件: 4°C, 一年内有效。

适用范围: 动植物组织, 细胞



天津三箭生物技术股份有限公司
Tianjin Sungene Biotech Co., Ltd.
精准 高效 稳定 Precision Efficient Stable

Market | 400-621-0003
marketing@sungenebiotech.com

Support | 022-66211636-8024
techsupport@sungenebiotech.com

Web | www.sungenebiotech.com

5~10×10⁶ 个动物, 植物或酵母细胞, 每 1×10⁷ 个细菌细胞加入 1ml Trizol 试剂。应该避免在加入 Trizol 试剂前洗细胞, 可能会导致 mRNA 降解。处理某些酵母或细菌细胞需要使用匀浆机。

可选方案: 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额外的分离步骤。匀浆化后在 2~8°C, 12,000×g, 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。在不同样品中, 将清亮的匀浆溶液转移到一干净的试管中加入氯仿, 进行下述的分离步骤。

2. 分离阶段

将匀浆样品在 15 -30°C 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。盖紧样品管盖, 用力摇晃试管 15 秒, 室温孵育 2~3 分钟。2~8°C, 不超过 12,000×g 离心力, 冷冻离心 15 分钟。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 则存在于水样层中。水样层的容量大约为所加 Trizol 容量的 60%。

3. 沉淀 RNA

将水样层转移到一干净的试管中, 若分离 DNA 和蛋白, 则保留有机层。在水样层中加入异丙醇, 沉淀 RNA(每 1ml Trizol 加入 0.5ml 异丙醇)。15 -30°C, 孵育 10 分钟。2~8°C, 不超过 12,000×g 离心力, 冷冻离心 10 分钟。RNA 沉淀在离心前通常不可见, 形成絮状沉淀附着于试管壁和管底。

4. 漂洗 RNA

弃去上层悬液。用 75% 的乙醇洗涤 RNA 沉淀一次 (1ml 的 Trizol 加 1ml 的 75% 乙醇)。振荡混匀, 2~8°C, 12,000×g 离心力, 冷冻离心 5 分钟。

5. 再溶解 RNA

空气干燥或真空干燥 5~10 分钟, 勿使用真空管离心干燥 RNA。切记 RNA 沉淀不能干燥过度, 否则会影响 RNA 的可溶性。部分溶解的 RNA 样品其 A260/280<1.6。用无 RNA 酶的水或 0.5%SDS 溶液来溶解 RNA(若提取 RNA 用于酶切反应, 避免使用 SDS 溶解)。可以用 100% 甲酰胺 (除去离子) 再溶解 RNA, 并保存在 -70°C。

For Research Use Only.