

# TRIzol Reagent

货号：ZY-RT002

## 产品简介

本产品经典配方的基础上进行升级，用于细胞或组织总 RNA 抽提的试剂。TRI Reagent 能很好提取动物细胞或组织及细菌的总 RNA，但对植物组织 RNA 的提取有选择性。模式植物（拟南芥，小麦，烟草，玉米，大豆）能提取较好的 RNA。一些多糖多酚含量高的植物（西红柿，银杏，梧桐，毛白杨，棉花等）叶片使用 TRI Reagent 不能提取 RNA。

TRI Reagent 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°C 沉淀过夜。

TRI Reagent 抽提所得 RNA 无 DNA 和蛋白污染。每一百万细胞约可得 5-15 μg RNA；每毫克组织约可得 1-10 μg RNA，产量因细胞和组织不同而异。

TRI Reagent 抽提所得 RNA 可直接用于 Northern，点杂交，纯化 mRNA，体外翻译，RNase protein assay，cDNA 克隆以及 RT-PCR，也可用于基因表达芯片分析，高通量测序等对 RNA 质量要求较高的情况。

## 保存方法

4°C 保存，一年有效。



## 使用方法

### 1. 细胞裂解或组织匀浆。

(1) 贴壁细胞：吸尽培养液，每 10cm<sup>2</sup> 细胞加入 1ml TRI Reagent。一般6孔板每孔加1ml，12孔板每孔加 0.5ml，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，每五百万至一千万动植物或酵母细胞或一千万细菌，加入 1ml TRI Reagent。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

1) 植物组织：植物叶片直接放入研钵中，加入少量液氮，迅速研磨成粉末，每50-100mg植物叶片加入 1ml TRI Reagent。

注：经典模式植物如拟南芥、烟草、小麦、玉米等植物叶片能很好地提取 RNA；但一些多糖多酚植物，如西红柿、棉花、毛白杨等，不能使用 TRI Reagent 提取 RNA。

2) 动物组织：按 10-30mg 组织加入 1ml TRI Reagent，用电动匀浆器或者一次性研磨杵充分匀浆。

2. 对于某些蛋白，多糖或脂含量很高的细胞或组织，TRI Reagent 裂解后可能会有不溶物或油脂状漂浮物。需 12,000g，4℃离心 10 分钟，然后吸取澄清的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 TRI Reagent 加 0.2ml 氯仿（或使用氯仿替代物 BL1665A），vortex 混匀或猛烈晃动15秒，室温放置 2-3 分钟。



## 使用方法

5. 12,000g, 4°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TRI Reagent 约可吸取 0.5-0.55ml。
6. 加入与上清等体积的预冷异丙醇, 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°C沉淀过夜。
7. 12,000g, 4°C离心 10 分钟, 在管底可见 RNA 沉淀, 弃上清。
8. 每毫升最初的 TRI Reagent 加入 1ml 75%乙醇 (DEPC 水配制), vortex 或颠倒混匀,
9. 7,500g 4 °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 晾干后, 加入 20-50 ul DEPC 水溶解, -70°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。

## 注意事项

1. 需自备氯仿 (或使用氯仿替代物 BL1665A), 异丙醇, DEPC 水, 75%乙醇 (DEPC水配制)。
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°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。



## 注意事项

3. 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 TRI Reagent，并裂解样品后冻存。

4. 必须戴一次性手套操作，且尽量不要对着 RNA 样品说话，以防 RNA 酶污染。

5. TRI Reagent 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 TRI Reagent，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. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

