

TRIzol Reagent for RNA Extraction

Cat# NP0001

产品概述

TRIzol 试剂适用于从多种培养细胞、动物组织、植物组织等样本中分离出高质量的 Total RNA。TRIzol 试剂是基于苯酚和异硫氰酸胍组成的单相溶液，搭配优化后的专有成分，裂解样本和抑制 RNase 能力更强。TRIzol 试剂快速裂解样本，经氯仿抽提后，分为上清层(含 RNA)、中间层和红色的有机层，用异丙醇沉淀、乙醇洗涤得到产量和纯度高的 Total RNA。获得的 Total RNA 可以直接用于 RT-PCR、qRT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译和高通量测序等分子生物学实验。

产品/组分信息

产品名称	货号	规格
TRIzol Reagent for RNA Extraction	NP0001-100ML	100 mL

储存方式

2~8°C 避光保存。

使用说明

操作前注意事项

- 本产品中含有苯酚，具有毒性和腐蚀性，使用时应穿戴防护物品，如防护服装、手套、眼罩、面罩等。如果不慎接触到眼睛，应立即用大量的清水冲洗并前往医院治疗；接触到皮肤，请立即用大量去垢剂和清水冲洗，如仍有不适，请前往医院治疗。
- RNA 提取的关键在于防止 RNase 污染。RNase 在环境中普遍存在，且极其稳定，微量的 RNase 即可迅速降解 RNA，因此，请按照常规 RNA 提取操作来做好防护措施，包括佩戴口罩和一次性灭菌手套，在单独的洁净区域操作，使用 RNase-free 的实验器具等。
- RNA 半衰期比较短，易降解，建议抽提后尽快进行后续实验。
- 本产品仅供科学研究使用，不得用于临床医学诊断及非合理用途。

所需物料

氯仿，异丙醇，75%乙醇(RNase-free ddH₂O 配制)，RNase-free ddH₂O，RNase-free 离心管，RNase-free 糖原(可选)

操作概述

- 样本裂解：加入 1mL TRIzol 试剂涡旋振荡，室温静置 5 min。
- 氯仿抽提：加入 1/5 体积的氯仿剧烈振荡，室温静置 5 min。
- 转移上清：11,200 rpm (12,000 × g) 4°C离心 15 min；吸取 500 μL 上层水相。
- RNA 醇沉：加入等体积异丙醇，上下颠倒混匀，室温静置 10 min。11,200 rpm (12,000 × g) 4°C离心 10 min，弃上清。

5. 乙醇洗涤：加入 1 mL 75%乙醇。11,200 rpm (12,000 × g) 4℃离心 5 min，弃上清。
6. RNA 溶解：晾干，加入 20-100 μL，RNase-free ddH₂O 溶解沉淀。

操作步骤

1. 样本处理

表 1 1mL TRIzol 试剂能够充分裂解的最大样本量

贴壁细胞	1×10 ⁵ - 1×10 ⁷ 个 (直径 3.5 cm 皿，约 10 cm ²)
悬浮细胞	5×10 ⁶ - 1×10 ⁷ 个
细菌	10 ⁷ 个
动物组织	50-100 mg
植物组织	50-100 mg

【注】：

1. 过多的样本量可能会导致裂解不充分，并使产物纯度降低。
2. 样本体积不应超过 TRIzol 试剂体积的 10%。

1.1 贴壁细胞

- 1.1.1 弃去培养液，用 1 × PBS 清洗一次。
- 1.1.2 常规 6 孔板每孔或直径 3.5 cm 平皿(约 10 cm² 培养面积)的细胞加入 1 mL TRIzol 试剂，使之充分覆盖到细胞表面，然后用移液器反复吹打细胞使其脱落。

【注】：对于贴壁牢固的细胞(细胞团)可采用细胞刮或者洁净的枪头剥离，也可在加入 TRIzol 试剂之前采用胰酶消化处理细胞，然后按照悬浮细胞进行操作。

- 1.1.3 将裂解液转移至 1.5 mL 离心管中，用移液器反复吹打直至充分裂解，室温静置 5 min。

1.2 悬浮细胞

- 1.2.1 2,300 rpm (500 × g) 4℃离心 2 - 5 min 弃上清，收集细胞。
- 1.2.2 每 5 × 10⁶ - 1 × 10⁷ 个细胞加入 1 mL TRIzol 试剂。
- 1.2.3 涡旋振荡或用移液器反复吹打直至充分裂解，室温静置 5 min。

【注】：对于冻存细胞，加入 TRIzol 试剂应立即进行振荡，否则会导致裂解不充分。

1.3 动物/细胞组织

1.3.1 液氮研磨

1.3.1.1取超低温冻存的组织或将新鲜组织用液氮速冻，再将样本迅速转移至液氮预冷的研钵中，用研杵研磨，期间不断加入液氮，直至研磨成粉末状(无明显可见颗粒)。

【注】：

1. 研磨不彻底会影响 RNA 的得率和质量。
2. 植物样本建议使用液氮研磨的方式。

1.3.1.2将研磨成粉的样本转移至离心管中，每 50 - 100 mg 组织中加入 1 mL TRIzol 试剂，涡旋振荡直至无明显团块,室温静置 5 min。

1.3.1.3(可选)若样本中脂肪含量高，可 11,200 rpm (12,000 × g) 4℃离心 5 min，去除上层油脂，然后将透明上清转移至新的 RNase-free 离心管中。

1.3.2 匀浆处理

1.3.2.1取新鲜组织，每 50 - 100 mg 组织中加入 1 mL TRIzol 试剂，用玻璃匀浆器、电动匀浆器等进行匀浆，直至无明显组织块，室温静置 5 min。

1.3.2.2(可选)若样本中脂肪含量高，可 11,200 rpm (12,000 × g) 4℃离心 5 min，去除上层油脂，然后

将透明上清转移至新的 RNase-free 离心管中。

2. 总 RNA 提取

2.1 向上述裂解液中加入 1/5 体积的氯仿。剧烈振荡 15 sec，成乳浊液，室温静置 5 min。

【注】：

1. 若样本含有丰富的基因组，样本裂解后按 1 mL TRIzol 试剂加入 5 μ L 冰醋酸混匀，再加入氯仿进行抽提。
2. 此步必须混匀成均一乳浊状，否则会影响离心分层。

2.2 11,200 rpm (12,000 $\times$ g) 4°C 离心 15 min。

【注】：此步必须低温离心，否则可能会导致基因组污染增加。

2.3 小心取出离心管。此时溶液分为三层：上层水相(含 RNA)、中间层和红色有机层。小心吸取上层水相(约 500 μ L)至新的 RNase-free 离心管中，切勿吸到中间层。

【注】：上层体积约起始 TRIzol 试剂体积的 60%，如用 1 mL TRIzol 试剂提取，上层水相约为 600 μ L。

2.4 (可选)如果起始样本很少(<10⁶ 个细胞或 <10 mg 组织)，可向上层水相中加入 5 - 10 μ g RNase-free 糖原(自备)。

2.5 加入等体积异丙醇，上下颠倒混匀，室温静置 10 min。

2.6 11,200 rpm (12,000 $\times$ g) 4°C 离心 10 min，通常可看见白色沉淀，小心弃去上清。

【注】：

1. RNA 含量少的样本沉淀不明显，继续按照流程操作即可。
2. 为减少杂质残留，此步骤尽可能将上清弃干净，去除上清后可将 RNase-free 管倒扣于干净的吸水纸上静置 1 min，请勿倒掉或吸走 RNA 沉淀。

2.7 加入 1 mL 75%乙醇(RNase-free ddH₂O 配制)。轻弹管底，让沉淀悬浮起来，并上下颠倒数次。

2.8 11,200 rpm (12,000 $\times$ g) 4°C 离心 5 min，小心弃去上清。

【注】：为减少杂质残留，此步骤尽可能将上清弃干净，勿丢失沉淀。建议弃去大部分上清后，短暂离心将所有液体甩至管底，再用移液器将剩余液体吸掉，请勿倒掉或吸走 RNA 沉淀。

2.9 在洁净的环境中室温敞口干燥沉淀 2-5 min，加入 20 - 100 μ L RNase-free ddH₂O 溶解沉淀，室温涡旋或用移液器反复吹打，使 RNA 沉淀充分溶解。提取产物分装后 -85 ~ -65°C 长期保存，-30 ~ -15°C 短期保存。

【注】：

1. 不可过分干燥，否则会导致 RNA 难以溶解。
2. 可在 55 ~ 60°C 的水浴中孵育 10 - 15 min 促进 RNA 的溶解。

Technical Support

Copyright © 2023 CYTOCH, All Rights Reserved. The CYTOCH logo is a registered trademark.

To place an order or to obtain a product information, please go to: www.cytoch.com.

Or contact us by:

E-mail: support@cytoch.com

Tel: 400-969-8881

For research use only.

CYTOCH