

## TRIzol® RNA 提取试剂盒

试剂盒规格： 货号： A2010A0401 (50T), A2010A0402 (100T), A2010A0403 (200T)

### 试剂组成：

A2010A0401	50T	Storage
TRIzol Reagent (invitrogen, biotnt 分装)	50 mL/vial 1 Vial	室温
1-溴-3 氯丙烷	100ml 1 瓶	室温
75% DEPC 水乙醇	25 mL/vial 1 Vial	室温
异丙醇	25 mL/vial 1 Vial	室温
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	1.5 mL/vial 1 Vial	室温
说明书	1 份	

  

A2010A0402	100T	Storage
TRIzol Reagent (invitrogen)	100ml 1 套	室温
1-溴-3 氯丙烷	100ml 1 瓶	室温
75% DEPC 水乙醇	50 mL/vial 1 Vial	室温
异丙醇	50 mL/vial 1 Vial	室温
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	1.5 mL/vial 2 Vial	室温
说明书	1 份	

  

A2010A0403	200T	Storage
TRIzol Reagent (invitrogen)	100ml 2 套或 200ml 1 套	室温
1-溴-3 氯丙烷	100ml 1 瓶	室温
75% DEPC 水乙醇	50 mL/vial 2 Vial	室温
异丙醇	50 mL/vial 2 Vial	室温
RNase-free ddH <sub>2</sub> O	1.5 mL/vial 4 Vial	室温
说明书	1 份	

## 产品介绍

TRIzol®是一种快捷方便的总 RNA 提取试剂, 可以从动物组织、各种微生物及细胞等样本中提取总 RNA。在样品处理过程中, TRIzol 可完全充分裂解样品, 同时保持 RNA 的完整性。加入 1-溴-3 氯丙烷离心后, 溶液形成上清层 (水相)、中间层和有机相 (下层)。取出上清层, 可用异丙醇沉淀回收 RNA; 中间层用乙醇沉淀回收 DNA; 有机相可用异丙醇沉淀回收蛋白。

本试剂盒提取 RNA 方便快捷, 整个操作过程可在二个小时内完成, 提取的 RNA 无蛋白和 DNA 的污染, 纯度高, 可直接用于 Northern Blotting、斑点杂交、polyA 筛选、mRNA 纯化、体外翻译、RNase 保护分析、RT-PCR、构建 cDNA 文库等各种分子生物学实验。

## 产品使用限制

1. 本产品只用于分子生物学研究。其不应用于诊断、预防和治疗疾病。在使用本产品时应遵从相应的注意事项;
2. 本产品中部分试剂有腐蚀性或毒性, 勿直接接触皮肤或吞咽;
3. 操作时请穿戴实验服和手套, 如接触皮肤, 应立即用大量清水冲洗;
4. 误食或其他紧急情况, 请及时到医院就治;
5. 部分试剂易燃, 请注意消防安全。

## 客户自备设备和试剂

1. 1.5mL Eppendorf 管 ( 无菌、无酶、RNase-free ; 货号 A2010B0X04 );
2. RNase-free Tips ( 1000 $\mu$ L、200 $\mu$ L 的枪头 ; 货号 A2010B0X09 );
3. 移液器 ( 200 $\mu$ L , 1000 $\mu$ L );
4. 电动匀浆器, 组织破碎器或者超声破碎仪;
5. 12000g 冷冻离心机;

## 操作说明

1. 称取 100mg 湿重组织, 加入 1000 $\mu$ L 的 TRIzol, 用眼科剪剪碎并用电动匀浆器或者手动匀浆器匀浆, 室温 ( 20-25 $^{\circ}$ C ) 放置 5mins, 使其充分裂解。
2. 培养细胞至  $1.5 \times 10^6$  以上, 加入 1000 $\mu$ L 的 Trizol, 用 1mL 的移液枪来回充分吹打 200 下左右, 或用超声破碎仪破碎细胞。室温 ( 20-25 $^{\circ}$ C ) 放置 5mins, 使其充分裂解。
3. 4 $^{\circ}$ C 12000rpm 离心 5mins, 将上清转移至干净的离心管。
4. 加入 200 $\mu$ L 1-溴-3 氯丙烷, 上下颠倒混匀, 室温放置 15mins。注: 禁用漩涡振荡器, 以免基因组 DNA 断裂污染。
5. 4 $^{\circ}$ C 12000rpm 离心 15mins。
6. 吸取上层水相, 至干净的离心管中。  
注: 千万不要吸取中间界面。若同时提取 DNA 和蛋白质, 则保留下层酚相存于 4 $^{\circ}$ C 冰箱, 若只提 RNA, 则弃下层酚相。
7. 加入 500 $\mu$ L 异丙醇, 上下颠倒混匀, 室温放置 10mins。
8. 4 $^{\circ}$ C 12000rpm 离心 10mins, 弃上清, RNA 沉于管底。

9. 加入 500 $\mu$ L 75% DEPC 水乙醇, 温和振荡离心管, 悬浮沉淀。
10. 4 $^{\circ}$ C 8000rpm 离心 5mins, 弃上清。
11. 室温干燥 5mins。
12. 加入 RNase-free ddH<sub>2</sub>O 溶解 RNA 样品, 57 $^{\circ}$ C 金属浴温育 5mins。
13. 所得 RNA 样本 -80 $^{\circ}$ C 储存备用。

## 注意事项

1. 基因组 DNA 含量较高的样本 ( 如上皮组织 ), RNA 样本很容易残留基因组 DNA 污染, 强烈建议用 DNase 对基因组 DNA 进行消化处理。
2. 组织和细胞裂解后, 加 1-溴-3 氯丙烷前, 样品可在 -80 $^{\circ}$ C 放置一个月以上;
3. RNA 沉淀可以保存在 75% DEPC 水乙醇中, -20 $^{\circ}$ C 可保存一年以上。
4. 1mL TRIzol 可以提取 50-100mg 组织, 组织或细胞用量过多会导致多余组织无法完全裂解释放 RNA 形成杂质, 增加了 RNA 纯化的难度以及基因组 DNA 污染的风险。
5. DEPC 是可挥发的剧毒物, 使用时需在通风厨中操作, 高温可水解成乙醇和二氧化碳。
6. 经常更换新手套, 以防止 RNase 污染;
7. 使用无 RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染;
8. RNA 在 TRIzol 试剂中短时间内不会被 RNase 降解, 但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料或玻璃器皿 ( 玻璃器皿可在 150 $^{\circ}$ C 烧烤 4 小时, 塑料器皿可在 0.5M NaOH 中浸泡 10 分钟, 然后用 DEPC 水彻底清洗, 再灭菌, 即可去除 RNase );

## RNA 质量控制

1. 测 O.D 值定量 RNA 浓度, 测定 RNA 产物溶液在 A260 和 A280 的 O.D. 值, A260/A280 值在 1.6-2.0 之间说明 RNA 提取结果良好。( < 1.6 时表明有蛋白质或酚污染, > 2.0 时表明可能有基因组 DNA、异硫氰酸 ( TRIzol ) 残存 )
2. 逆转录 cDNA, 将所有样本做一次内参 PCR 以及基因组内含子内参 PCR 预实验, 判断 RNA 的量以及基因组 DNA 污染情况。

## 参考得率

- 小鼠肝脏组织 : (  $\mu$ g RNA/mg 组织 ) 3.0-5.5  $\mu$ g ;  
小鼠肾脏组织 : (  $\mu$ g RNA/mg 组织 ) 1.5-3.0  $\mu$ g ;  
小鼠脾脏组织 : (  $\mu$ g RNA/mg 组织 ) 1.5-3.5  $\mu$ g ;  
小鼠心脏组织 : (  $\mu$ g RNA/mg 组织 ) 0.4-1.0  $\mu$ g ;  
小鼠肺组织 : (  $\mu$ g RNA/mg 组织 ) 0.6-1.2  $\mu$ g ;  
小鼠脑组织 : (  $\mu$ g RNA/mg 组织 ) 0.4-0.8  $\mu$ g ;  
293T 细胞 : (  $\mu$ g RNA/10<sup>6</sup> 细胞 ) 8-10  $\mu$ g ;  
Hela 细胞 : (  $\mu$ g RNA/10<sup>6</sup> 细胞 ) 20  $\mu$ g。

## 问题指南

问题	原因	解决方案
低 RNA 得率	裂解不完全	将第 1、2 步的沉淀按步骤再处理一遍。 减少初始样本量。 眼科剪处理组织样本时需剪碎一点,使样本与 TRIzol 充分接触。
	样本质量差	RNA 的得率和质量对样本的新鲜度有较高要求,请使用新鲜样本,或在-80°C中冻存不超过半年的样本。
	RNA 复溶操作不正确	使用无 RNA 酶的灭菌 DEPC ddH <sub>2</sub> O 或 TE 缓冲液复溶,复溶体积不能加太多,人为降低了 RNA 浓度。
RNA 降解	RNA 样本中含有 RNase	将 RNA 样本按上述步骤再处理一遍。
	样本取材到裂解过程污染	组织离体或细胞离开培养基后需立即加入 TRIzol,保持 TRIzol 浸没状态,尽早进行 RNA 提取操作
逆转录效率低	RNA 样本中残留乙醇	重复步骤 9-13,过程中注重 RNA 干燥
	RNA 样本中残留盐离子	重复步骤 9-13
A260/A280 不在 1.7-2.0 之间	蛋白质或酚污染	重复步骤 4-13,再用有机相纯化一遍
	异硫氰酸 ( TRIzol ) 残留	重复步骤 4-13,再用有机相纯化一遍

## 技术支持

BioTNT 为其所提供的技术支持质量和效率而自豪。我们的技术支持部门在样品及检测领域及对 BioTNT 产品具有丰富的实践经验和充足的理论知识。如果您 PCR 或其它产品有问题或遇到困难,请联系我们,无需迟疑。

BioTNT 客户是我们产品改进和特殊应用信息的主要来源。您所提供的信息对于 BioTNT 的研究人员很有帮助。当您对产品性能或新的应用及新的技术有任何建议时,我们希望您能及时联系我们。

有关技术支持和更多信息,请浏览 [www.biotnt.com](http://www.biotnt.com) 的网页或致电 BioTNT 的技术支持部门。