

## 组织细胞RNA提取试剂盒 (Trizol提取法)

产品货号: 11131

产品规格: 50T/100T

### 产品简介:

RNA的种类来源比较多,提取制备的方法各异,一般有苯酚法、去污剂法和盐酸胍法,其中最常用的是苯酚法,即Trizol法提取RNA。Trizol含苯酚和异硫氰酸胍等物质,能迅速裂解细胞或组织并且灭活核酸酶,保持RNA的完整性。加入氯仿并离心后,溶液形成上层为水相(无色)、中间层、下层为有机相(红色)。上层用异丙醇沉淀回收总RNA,中间层用乙醇沉淀回收DNA,下层用异丙醇沉淀回收蛋白。

组织细胞RNA提取试剂盒(Trizol提取法)适用于从各种组织或细胞中快速分离总RNA,既可用于小量样品(50~100mg组织、 $5 \times 10^6$ 细胞),也可用于大量样品( $>1g$ 组织/ $>10^7$ 细胞)。提取的总RNA质量高,可用于Northern blot、Dot blot、polyA筛选、体外翻译、RNase保护分析和分子克隆。本产品具有以下特点:①适用范围广;②操作简单,整个过程1小时内完成;③纯度高;④污染少。

### 产品组成:

试剂名称	50T	100T	保存条件
试剂(A): Trizol Reagent	50ml	100ml	4℃, 避光
试剂(B): RNA 分离液	10ml	20ml	室温, 避光
试剂(C): RNA 沉淀液	50ml	100ml	室温
试剂(D): RNA 洗涤液	50ml	100ml	室温
试剂(E): RNase-free ddH <sub>2</sub> O	10ml	20ml	室温
试剂(F): RNA 保存液	10ml	20ml	4℃, 避光

### 自备材料:

- 液氮、研钵或匀浆器
- 经RNase free处理的移液器吸头、EP管等耗材
- 低温高速离心机、低温冰箱

### 操作步骤 (仅供参考):

#### 1. 样品准备

- 贴壁细胞: ①直接裂解: 直接在培养瓶/皿中加入Trizol裂解细胞,每10cm<sup>2</sup>面积加1ml,用移液器吹打混匀。②胰蛋白酶消化: 用无菌PBS洗涤细胞后,加入含有0.05~0.25%胰蛋白酶的PBS处理细胞,当细胞脱离容器壁后,加入含有血清的培养基终止反应,将细胞溶液转移至无RNase的离心管中,以下参考悬浮细胞相关操作步骤。
- 悬浮细胞: 无需清洗细胞,直接5000~6000g离心5min,收集细胞沉淀,去除上清。收集细胞时一定要将细胞培养液去除干净,否则裂解不完全,降低RNA收获率。每 $5 \times 10^6 \sim 10^7$ 动物、植物和酵母细胞或每10细菌细胞加入1ml Trizol,充分振荡混匀。
- 组织: 取新鲜动物或者植物组织或者-70℃冻存组织,50~100mg组织在液氮中充分研磨或者加入1ml Trizol研磨或者用匀浆器匀浆处理。样品体积一般不超过Trizol体积的10%。研磨要迅速,以1min为佳。
- 血液: 取0.5~1ml新鲜或冻存的血液,12000g离心5min,去除血浆,加入1ml Trizol,充分振荡混匀。

- 核酸分离: 充分振荡混匀(可以置于低温/超低温冰箱冻存5~10min后,充分振荡,反复1~3次)。将裂解



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

QQ:807961520

邮箱:saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

样品或匀浆液室温静置 5~10min, 使核蛋白与核酸完全分离。

3. 样品分层: 加入 0.2 ml RNA 分离液, 振荡 15 s, 室温静置 2~3min。12000 g 4℃ 离心 10~15 min。上层为水相, 中间层和下层为有机相, RNA 在上层水相。
4. 沉淀 RNA: 吸取上层水相(约 500  $\mu$ l)转移至无 RNase 的离心管中(不要吸取任何中间层物质, 否则会有染色体 DNA 污染), 加入等体积 RNA 沉淀液混匀, 室温放置 15~20min。12000 g 4℃ 离心 10min, 离心后管侧或管底形成胶状沉淀, 弃上清。
5. 洗涤 RNA: 加入 1ml RNA 洗涤液轻轻洗涤沉淀, 室温放置 5~10min, 7500g 4℃ 离心 5min, 弃上清。室温干燥 5~10min, 不宜过分干燥, 否则 RNA 难以溶解。
6. 溶解 RNA: 加入 30~50ul RNase-free dd H<sub>2</sub>O 充分溶解, -70℃ 长期保存或直接用于后续试验。对于肝、胰、肾等组织中 RNase 含量高的样品沉淀用 RNA 保存液溶解。

#### 注意事项:

1. 样品保存: 加入 Trizol 混匀后, 样品可在-70℃ 放置 1~2 月; RNA 样品可以在 70%酒精中-70℃ 保存 2~4 周: 如果需要长期保存, 应置于超低温冰箱中保存。
2. Trizol Reagent 和 RNA 分离液含有腐蚀性物质, 污染皮肤或眼睛后, 立即用清水或生理盐水冲洗, 必要时寻求医生的帮助。
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期:** 12 个月有效。常温运输, 4℃ 保存。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>