

## A&DPure Trizol 试剂说明书

### 产品组成

Trizol 试剂	规格
Cat. No.A-5301500	5X100ml
Cat. No.A-5301100	100 ml
Cat. No. A-5301005	5.5 ml
说明书	1 份

### 产品储存与有效期

请将产品储存于 2~8℃，有效期为 1 年。

### 技术支持

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: [tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com) 电话：010-57225208。

### 产品介绍

本产品适合从 $\leq 5 \times 10^6$ 细胞或50~100 mg组织中分离纯化总RNA。分散后的细胞或匀浆的组织经Trizol溶解后，加入氯仿离心。基因组DNA溶解于下相，蛋白沉淀于相间，RNA则溶解于上相。吸取含有RNA的上相经异丙醇沉淀即可获得高质量的RNA。适用于Northern Blot、RT-PCR、体外翻译、Primer Extension、S1 核酸酶作图、RNase 保护测定、构建cDNA文库等各种分子生物学实验。

### 用户需自备的试剂与物品

1. 氯仿、异丙醇
2. RNase-free 水或者 DEPC 处理水
3. 75%乙醇（用 DEPC 处理水配制）
4. 液氮与研钵
5. 配有 18-23 号针头的注射器（动物组织）
6. RNase-free 1.5ml 离心管和移液器及吸头
7. PBS 溶液
8. 一次性手套及防护用品和纸巾
9. 台式小量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）

### 使用前准备

- 1) 注意：Trizol 试剂中含有苯酚，会腐蚀皮肤，必须戴手套进行操作，请勿直接接触试剂。
- 2) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 4℃。
- 3) RNase-free 水处理方法：在将去离子水加入到可灭菌的玻璃容器中，加入焦磷酸二乙酯（DEPC）至终浓度为 0.01% (v/v)，37 °C 静置过夜，121°C 20 分钟灭菌。

## 操作步骤：

本操作步骤是为用 1 ml Trizol 试剂提取 RNA 而设计的，如果从更多组织或细胞中提取 RNA，须将所加的 Trizol 试剂及异丙醇，75% 乙醇等用量按比例增加。如果从微量组织或者细胞（1~10 mg 组织或  $10^2\sim 10^4$  细胞）中提取 RNA，则应在步骤 4）的异丙醇沉淀步骤中补加 5~10  $\mu\text{g}$  糖原或者 Carrier RNA。糖原或者 Carrier RNA 的存在不影响 RT-PCR。

### 1) 不同来源样品的处理：

#### 人或动物组织：

在研钵中用液氮将约 300~500 mg 组织研磨至粉末状，用液氮预冷过的 1.5 ml 离心管称取 50~100 mg 人或动物组织，加入 1 ml Trizol 试剂。用装有 21-25 号针头的注射器反复抽吸 8~10 次。注意将针头保持在液面之下，以减少泡沫的产生。

\* 尽量在组织粉末尚未融化前加入 Trizol，以减少组织内源性的 RNA 酶对 RNA 的降解。

#### 培养的动物细胞：

**贴壁培养的细胞：**每  $10\text{cm}^2$  培养细胞中加入 1 ml Trizol 试剂（比如直径为 3.5 cm 细胞培养皿，弃尽培养基后，直接加入 1 ml Trizol 试剂），勿弃吸头，直接用吸头吹打细胞数次使细胞溶解，吸取匀浆液转移到一个 1.5 ml 离心管中，进入步骤 3) 的操作。

**悬浮培养的细胞：**用 1.5 ml 离心管离心收集  $5\sim 10\times 10^6$  细胞，加 100  $\mu\text{l}$  PBS 溶液，漩涡振荡直至细胞全部悬浮，加入 1 ml Trizol 试剂，勿弃吸头，直接用吸头吹打细胞数次使细胞溶解，进入步骤 3) 的操作。

#### 植物组织 / 植物细胞 / 酵母 / 细菌：

在研钵中用液氮将约 300~500 mg 样品研磨至粉末状，再用液氮预冷的 1.5 ml 离心管称取约 100 mg 研磨成粉末状的组织，加入 1 ml Trizol 试剂，勿弃吸头，直接用吸头吹打细胞数次使细胞溶解，进入步骤 3) 的操作。

2) **可选步骤：**如样品中含有较多蛋白质，脂肪，多糖或胞外物质（肌肉，植物结节部分等）可于  $12000\times g$  离心 5 分钟，取上清。离心得到的沉淀中包括细胞外膜，多糖，高分子量 DNA，上清中含有 RNA。处理脂肪组织时，上层有大量油脂应去除。取澄清的匀浆液进行下一步操作。

3) 加入 200  $\mu\text{l}$  氯仿，盖上管盖，用力摇晃 15 秒， $12000\times g$  离心 15 分钟。

4) 取一个 RNase-free 1.5 ml 离心管，加入 500  $\mu\text{l}$  异丙醇，将步骤 3) 中的离心上清液转移到装有异丙醇的 1.5 ml 离心管中。混合均匀， $12000\times g$  离心 15 分钟。

5) 弃上清，加入 1 ml 75% 乙醇，温和地翻转离心管 4~6 次， $7,500\times g$  离心 5 分钟。

6) 弃上清，盖上管盖，低速离心数秒使管壁上的乙醇沉降到管底。用 200  $\mu\text{l}$  吸头吸尽残留的乙醇，保留管底的白色 RNA 沉淀。室温静置 5 分钟干燥 RNA。

7) 加入 50~100  $\mu\text{l}$  RNase-free 水溶解 RNA，并将 RNA 储存于  $-70^\circ\text{C}$  备用。

\* 如果需要更高纯度的 RNA（比如从植物中提取的 RNA 可能有多糖物质的污染），可选用本公司的 RNA 清洁试剂盒（Cat. No. A-5401050）