

说明书

总 RNA 提取试剂 TRezol Reagent

产品介绍

TRezol 是总 RNA 提取试剂。实验操作快速方便，颜色鲜明，便于分层。本试剂适用范围广泛，可以从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中提取总 RNA。该方法对少量的组织(50~100mg)和细胞(5×10^6)以及大量的组织($\geq 1g$)和细胞(10^8)均有较好的分离效果。样品在 TRezol 中被充分裂解的同时能够最大限度地保证 RNA 的完整性。在加入氯仿离心后，溶液会分成三层：上层无色水相、中间层和下层红色有机相，RNA 分布在上清层中。收集上清层后，经异丙醇沉淀便可以回收得到总 RNA。提取的总 RNA 完整性好无蛋白和 DNA 污染，可用于各种分子生物学常规实验，如 RT-PCR、Real-time RT-PCR、Northern blot、Dot Blot、翻译等。

特点

- 具有出色的裂解能力；一份样品同时提取 RNA、DNA 和蛋白质。
- 适用于组织、细胞、血清、病毒和细菌等多种样品类型；也适用于多个分子靶点的提取，应用广泛。
- 维持 RNA 的完整性，从多种样本来源中获得可靠的纯化 RNA。
- 产品稳定性高，易保存，保质期长。
- 性价比高，高效性操作简单快捷。

储存事项

可在室温下运输。长期存放建议保存在 $2 \sim 8^\circ\text{C}$ 的避光通风环境下。有效期 3 年。

注意事项

- ⚠ 收集样本后立即进行 RNA 提取或收集后立即快速冷冻样本，并在 -80°C 或液氮中储存直至 RNA 提取。RNA 半衰期比较短，容易降解，建议提取后尽快进行后续实验，如反转录成 cDNA，Northern Blot 等。
- ⚠ 若下游实验对 DNA 非常敏感，建议用 RNase free DNase I 对 RNA 进行处理。
- ⚠ 自备试剂：氯仿、异丙醇（新开封或提取 RNA 专用）、75%乙醇(用 DEPC 处理过的水配制)、RNase free water 或者 DEPC 处理过的水。

操作步骤

***提示：**用 TRezol 抽提 RNA 时要戴手套和防护罩，避免接触皮肤和衣服，需在化学通风橱完成操作，避免呼吸道吸入。如无特殊说明，所有的操作应该在 $15 \sim 30^\circ\text{C}$ 的室温条件下。

1. 匀浆

- 植物组织：取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在 TRezol 中迅速研磨，每 50~100mg 组织加入 1mL TRezol，混匀。注意：样品体积一般不要超过 TRezol 体积的 10%。
- 动物组织：取新鲜或 -70°C 冻存动物组织尽量剪碎，每 30~100mg 组织加入 1mL TRezol，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入 TRezol 1mL 混匀。注意：样品体积一般不要超过 TRezol 体积的 10%。

c. 单层培养细胞：尽量去除干净残留培养液后直接往直径 3.5 cm 的培养板中加入 1mL 的 TRezol 覆盖并反复吹打裂解细胞。依据培养板的面积而不是依据细胞的数量来决定所需的 TRezol 量（每 10cm² 加 1mL）。当 TRezol 量不足时可能会导致抽提的 RNA 中掺杂有 DNA。注意：贴壁培养细胞往往不能完全从培养瓶（皿）脱落，这并不意味着裂解不完全，此时细胞膜实际已经完全破裂开，并已释放出全部 RNA，继续做即可。

细胞悬液：离心收集细胞。在 TRezol 试剂中用移液管反复吹打来裂解细胞。每 5~10×10⁶ 的动物细胞、植物或酵母菌细胞或每 1×10⁷ 细菌加 1mL 的 TRezol。在加入 TRezol 前应避免洗涤细胞，因为那样会增加 mRNA 降解的可能性。破裂某些酵母菌和细菌可能需要使用匀浆器。

d. 血液：推荐使用本公司的 TRezol LS Reagent(货号：B1002E)，这是全血或者液体样品专用的 TRezol Reagent，LS 为 Liquid Sample 液体样品的首字母简写。

2. 将匀浆样品剧烈振荡后在室温条件下放置 5 分钟以使核蛋白体完全解离。
3. 可选步骤：在 4℃ 的条件下以 12,000 rpm 的离心力离心 10 分钟，取上清。如样品中含有较多蛋白质，脂肪，多糖或肌肉，植物的块茎结节等可离心去除。离心后的沉淀中包含有细胞外膜，多糖，以及高分子量 DNA，上清中含 RNA。处理脂肪组织的样品时，上层是大量油脂应除去。取澄清的匀浆液进行下一步。
4. 每 1mL TRezol 加 0.2mL 氯仿，盖紧管盖，剧烈震荡 15 秒并将其在室温下放置 2~3 分钟。
5. 在 4℃ 12,000 rpm 的离心力高速冷冻离心 10~15 分钟。离心后混合物分成三层：下层红色有机苯酚氯仿层、中间层、上层无色的水样层。RNA 无一例外地存在于水样层当中。水样层的容量大约为所加 TRezol 容量的 50%~60%（有机层和中间层是蛋白和 DNA，如果需要提取，请联系我们索取提取方法）。
6. 将水样层转移到一干净的离心管中，加入等体积异丙醇。颠倒混匀后室温放置 10 分钟。RNA 沉淀在离心前通常不可见，离心后在管侧和管底形成胶状沉淀。
7. 在室温或者 4℃ 12,000 rpm 离心 10 分钟，弃上清。
8. 加入 75%乙醇颠倒混匀洗涤沉淀。每使用 1mL TRezol 用 1mL 75%乙醇对沉淀进行洗涤。
9. 4℃ 12,000 rpm 离心 3 分钟，弃上清，注意不要丢失 RNA 沉淀。注意：剩余的少量液体可短暂离心，然后用枪头吸出，注意不要吸弃沉淀。
10. 室温放置 2~3 分钟，晾干。加入 30-100μl RNase free water，充分溶解 RNA，得到的 RNA 保存在-70℃，防止降解。注意：沉淀不要过分干燥，以免难于溶解。



重要提示

产品用途：仅供研究使用，不适用于人或动物的体外诊断与治疗。

由于实验受多种因素影响具有不确定性，本说明书操作说明仅供参考，最终解释权归本公司所有。

警告！产品对人体危害性未知，请遵循操作说明。穿戴适当的防护眼镜、衣服和手套！

