

组织细胞 RNA 提取试剂盒(Trizol 提取法)

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。

Leagene 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 ~ 100 mg 组织、 5×10^6 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，该试剂盒有以下特点：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。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

名称	编号	NE0260 50T	Storage
试剂(A): Trizol Reagent		50ml	4°C 避光
试剂(B): RNA 分离液		10ml	RT 避光
试剂(C): RNA 沉淀液		50ml	RT
试剂(D): RNA 洗涤液		50ml	RT
试剂(E): RNase-free ddH ₂ O		10ml	RT
试剂(F): RNA 保存液		10ml	RT 避光
使用说明书		1 份	

自备材料：

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

操作步骤(仅供参考)：

1、样品准备

- 1)贴壁细胞：①直接裂解：直接在培养瓶/皿中加入 Trizol Reagent 裂解细胞，每 10cm^2

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。

2) 悬浮细胞: 无需清洗细胞, 直接 5000 ~ 6000 g 离心, 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 10^7 细菌细胞加入 1ml Trizol Reagent, 充分振荡混匀。

3) 组织: 取新鲜动物或者植物组织或者 -70°C 冻存组织, 50 ~ 100mg 组织在液氮中充分研磨或者加入 1ml Trizol Reagent 研磨或者用匀浆器匀浆处理, 样品体积一般不超过 Trizol Reagent 体积的 10%, 研磨要迅速。

4) 血液: 取 0.5 ~ 1 ml 新鲜或冻存的血液, 12000g 离心, 去除血浆, 加入 Trizol Reagent, 充分振荡混匀。

- 2、核酸分离: 充分振荡混匀(可以置于低温/超低温冰箱冻存后, 充分振荡, 反复 1 ~ 3 次), 将裂解样品或匀浆液室温静置, 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 15s, 室温静置, 12000 g 4°C 离心, 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 μl)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, 12000 g 4°C 离心, 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, 7500g 4°C 离心, 弃上清, 室温干燥, 不宜过分干燥, 否则 RNA 难以溶解。
- 6、溶解 RNA: 加入 30 ~ 50ul RNase-free ddH₂O 充分溶解, -70°C 长期保存或直接用于后续试验, 对于肝、胰腺、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 Reagent 混匀后, 样品可在 -70°C 放置 1 ~ 2 月; RNA 样品可以在 70%酒精中 -70°C 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。
- 4、试剂开封后请尽快使用, 以防影响后续实验效果。

有效期: 12 个月有效。常温运输, 按要求保存。

分析与定量:

- 1、测定样品在 260 nm 和 280 nm 的吸收值确定 RNA 的质量, 按 $1\text{OD}=40\mu\text{g}$ RNA 计算 RNA 的产率, $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 在 1.8 ~ 2.0 视为抽提 RNA 纯度较好, 浓度在 $4\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上的样品适于用分光光度计测定。
- 2、进行甲醛变性琼脂糖电泳, 确定 RNA 的完整性和污染情况。
- 3、核酸分析仪测定 RNA 的质量和纯度。