



TRzol (总 RNA 提取试剂)

TRzol Reagent

产品信息:

组成	RA101
RA101-01	50ml
RA101-02	50ml×2
RA101-11	50ml (无色)
RA101-12	50ml×2 (无色)

储存条件:

TRzol 在室温下能稳定保存 12 个月。尽管如此，为达到最佳效果，我们建议保存在 2-8℃ 的环境下。

重要提示:

有毒物接触皮肤或者不慎吞服，会导致灼伤。一旦接触皮肤后立即以大量的洗涤剂 and 清水清洗。若感不适，看医生并寻求苯酚和其他成分的正确治疗方案。

产品介绍:

TRzol 试剂是直接 from 细胞或组织中提取总 RNA 的试剂。它在破碎和溶解细胞时能保持 RNA 的完整性。加入氯仿后离心，样品分成水样层和有机层。RNA 存在于水样层中。收集上面的水样层后，RNA 可以通过异丙醇沉淀来还原。

无论是人、动物、植物还是细菌组织，该方法对少量及大量的组织和细胞均有较好的分离效果。TRzol 试剂操作上的简单性允许同时处理多个的样品。所有的操作可以在一小时内完成。TRzol 抽提的总 RNA 能够避免 DNA 和蛋白的污染。故而能够作 RNA 印迹分析、斑点杂交、poly(A)+选择、体外转录、RNA 酶保护分析和分子克隆。如果是用于 PCR，当两条引物位于单一外显子内时，建议用扩增级的 DNase I 来处理抽提的总 RNA。

TRzol 试剂能促进不同种属不同分子量大小的多种 RNA 的析出。例如，从大鼠肝脏抽提的 RNA 琼脂糖凝胶电泳并用溴化乙啶染色，可见许多介于 7kb 和 15kb 之间不连续的高分子量条带 (mRNA 和 hnRNA 成分)，两条优势核糖体 -5 kb (28S) 和 -2 kb (18S)，低分子量 RNA 介于 0.1 和 0.3kb 之间 (tRNA, 5S)。当抽提的 RNA 用 TE 稀释时其 A260/A280 比值

≥1.8。

注意事项:

- 1.从少量的组织(1~10mg)或细胞(10^2 - 10^4)中分离 RNA 样品:往组织或细胞中加入 800 μ l TRzol。待样品裂解后,加入氯仿并进行步骤 2 中的抽提操作。在用异丙醇沉淀 RNA 之前,加入 5~10 μ g 无 RNA 酶的 glycogen 作为水样层的载体。为降低其黏度在加入氯仿前用 26 号注射器抽吸两次以切断基因组 DNA。Glycogen 会留在水样层中并和 RNA 共析出。在浓缩到 4mg/ml 之前它不会抑制逆转录反应第一链的合成也不会抑制 PCR。
- 2.在匀化后和加入氯仿之前,样品可以在-60 $^{\circ}$ C 或者-70 $^{\circ}$ C 保存至少一个月。RNA 沉淀(步骤 4, RNA 漂洗)溶于 75%的乙醇在 2-8 $^{\circ}$ C 至少可以保存一周,在-5--20 $^{\circ}$ C 下至少可保存一年。
- 3.用 TRzol 抽提 RNA 时要戴手套和护眼罩。避免接触皮肤和衣服。在化学通风橱完成操作。避免呼吸道吸入。如无例外,所有的操作应该在在 15-30 $^{\circ}$ C 的条件下。

自备试剂:

氯仿、异丙醇、75%乙醇(用 DEPC 处理过的水配制)、无 RNA 酶的水或 0.5% SDS 溶液调配无 RNA 酶的水——将水加入无 RNA 酶的玻璃瓶中,加入 DEPC 至 0.1% (v/v)。放置过夜并高压灭菌。SDS 溶液必须用 DEPC 处理过并经高压灭菌的水配制。

操作步骤:

1.匀浆化作用

a.组织

用glass或强力匀浆器搅匀组织样品,每50~100mg组织加1ml的TRzol。匀浆化时组织样品容积不能超过TRzol容积的10%。

b.单层生长的细胞

直接往直径3.5 cm的培养板中加入1ml的TRzol溶解细胞,通过移液管分次移出细胞裂解物。依据培养板的面积而不是依据细胞的数量来决定所需的TRzol量(每10cm²加1ml)。当TRzol量不足时可导致抽提的RNA中污染有DNA。

c.悬浮生长的细胞

通过离心来沉淀细胞。在TRzol试剂中用移液管反复吹打来裂解细胞。每5~10 $\times 10^6$ 的动物细胞,植物或酵母菌细胞或每1 $\times 10^7$ 细菌加1ml的TRzol。在加入TRzol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。

2.分离阶段

将匀浆样品在15-30 $^{\circ}$ C条件下孵育5 min以使核蛋白体完全分解。每1ml TRzol加

0.2ml氯仿。盖紧样品管盖，用手用力摇晃试管15秒并将其在室温下孵育2-3 min。在2~8℃下以不超过12,000×g的离心力高速冷冻离心15 min。离心后混合物分成三层：下层苯酚-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TRzol容量的60%。

3.RNA 的沉淀

将水样层转移到一干净的试管中，如果希望分离DNA和蛋白，有机层同样要予以保留。通过将水样层和异丙醇混合来沉淀RNA。最初均化时的每1ml TRzol对应0.5ml异丙醇。将混合的样品在15-30℃条件下孵育10 min并在2~8℃下以不超过12,000×g的离心力高速冷冻离心10 min。RNA沉淀在离心前通常不可见，形成一胶状片状沉淀附着于试管壁和管底。

4.RNA 的漂洗

移去上层悬液。用75%的乙醇洗涤RNA沉淀一次，每1ml的TRzol至少加1ml的75%乙醇。旋涡振荡混合样品并在2~8℃下以不超过7,500×g的离心力高速冷冻离心5 min。

5.RNA 的再溶解

在操作的最后，简单干燥RNA沉淀（空气干燥或真空干燥5~10 min）不要在真空管里离心干燥RNA。尤为重要，不能让RNA沉淀完全干燥那样会极大地降低它的可溶性。部分溶解的RNA样品其OD₂₆₀/OD₂₈₀比值<1.6。用移液管尖分几次移取无RNA酶的水或0.5%SDS溶液来溶解RNA（当RNA以后要用于酶切反应时，避免使用SDS。）RNA还能被100%甲酰胺（除去离子）再溶解并保存在-70℃。