Product Data Sheet

Product Name: TRIzol Reagent

Cat. No.: GK20008

Features

应用&特点	•允许从同一样品中分离 RNA，DNA 和蛋白质 •提供出色的裂解能力，即使样品类型复杂 •针对组织，细胞，血清，病毒和细菌的优化配方和方案
储存条件	储存 2-8°C 避光

Protocol

自备试剂

氯仿，异丙醇，70％乙醇（DEPC 水配置），无 Rnase 的 H_2O。

Ⅰ实验前准备

RNA 制备的关键是要抑制细胞中的 RNA 分解酶和防止所用器具及试剂中的 RNA 分解酶的污染。因此，在实验中必须采取以下措施：戴一次性干净手套；使用 RNA 操作专用实验台；在操作过程中避免讲话等等。通过以上办法可以防止实验者的汗液、唾液中的 RNA 分解酶的污染。

注意事项：

1. 尽量使用一次性塑料器皿，若用玻璃器皿，应在使用前用 0.1%DEPC 水溶液在 37° C 处理 12h，然后在 120° C 高压灭 30min 以除去残留的 DEPC。
2. 用于 RNA 实验的试剂，须使用干热灭菌（180° C，60min）或使用上述方法进行 DEPC 水处理灭菌后的玻璃容器盛装（也可以使用 RNA 实验用的一次性塑料容器)，使用的无菌水须用 0.1%的 DEPC 处理后再进行高温高压灭菌。
3. RNA 实验用的试剂和无菌水都应专用，避免混用后交叉污染。

Ⅱ 实验操作

TRIzol 试剂的用法如下

样品类型	样品规格	TRIzol 用量
贴壁培养细胞	10 cm^2	1 mL
悬浮培养细胞	$1x10^6$-$10x10^6$	1 mL
普通组织样本（肌肉等）	50-100 mg	1 mL
特殊组织样品（脾，肝脏等）	30-50 mg	1-2 mL
植物组织	30-50 mg	1 mL
白细胞	$1x10^6$	1 mL

样品规格 和 RNA 产量

样品类型	样品规格	RNA 产量
白细胞	$1x10^6$	10~20 µg
植物组织	25 mg	10~20 µg
细胞	$1x10^6$	8~15 µg
肌肉/脑等组织	50 mg	10~25 µg
肝脏	50 mg	100~300 µg

TRIzol 使用说明

	贴壁培养细胞	悬浮细胞，酵母，细菌	动物和植物组织
1. 样品预处理	从每 10 cm^2 的培养细胞中倒出培养液，并用 PBS 洗涤一次，以除去尽可能多的过量溶液。	将悬浮培养的细胞与培养液一起倒入离心管中，以 8,000 rpm 离心 2 分钟，弃去上清液，然后加入 50µl 无菌水重悬细胞，直到没有明显的沉淀为止。	将样品转移到用液氮预冷却的研钵中，用杵研磨组织，并在此期间连续添加液氮，直到将其研磨成粉末。
2. 加入 TRIzol	加入 1 ml 的 TRIzol，使裂解物均匀地分布在细胞表面，然后使用移液器吹干细胞。 将细胞裂解液转移至 1.5ml EP 管中。	加入 1ml TRIzol.	将磨碎的组织添加到含有 1 ml TRIzol 的 1.5 ml EP 管中。
3. 裂解样品	加入 TRIzol 后，立即用腕力将其翻转过来，直到细胞和组织粉末均匀分散而没有结块。 在室温下放置 5 分钟，以完全分离核酸-蛋白质复合物。		
4. 加入氯仿	加入 200µl 氯仿，用手腕剧烈摇晃 15 秒钟，然后在室温下放置 2 分钟。		
5. 离心分层	以 13,000 rpm 离心 10 分钟，然后将 600µl 无色上清液转移至新的 1.5EP 管中。		
6. 加入异丙醇	向上述 600µl 上清液中加入 600µl 异丙醇，用手腕将其上下颠倒几次，然后在-20°C 下放置 5 分钟。		
7. 离心总 RNA	以 13,000 rpm 离心 10 分钟，小心丢弃上清液，并保存底部总 RNA 沉淀。		
8. 冲洗总 RNA	向沉淀的每个试管中加入 1ml 70％乙醇，上下颠倒数次，然后以 13,000 rpm 离心 5 分钟。 小心丢弃上清液并保存底部 RNA 沉淀。		
9. 再重复冲洗一次	重复步骤 8，然后再次洗涤。		
10. 挥发性残留乙醇	倒掉洗液，再次短离心 10s 后，用 10 µ l Tip 头吸干剩余的洗液，置于室温使乙醇挥发干净（～20min）。		
11. 溶解总 RNA	每管加入 20～100 µ l TE Buffer 或 RNase Free H_2O 溶解总 RNA。		

常见问题

1. 提取率低。可能的原因：（a。样品裂解或匀浆处理不彻底； b。RNA 沉淀未完全溶解）

2. A260/A280<1.65。可能原因：（a. 检测吸光度时，RNA 样品没有溶于水，而溶于了 TE 中；b．样品匀浆时加的组织量过多；c．分层后，吸取上清液不足 500 µl；d．吸取水相时混入了有机相）
3. DNA 污染过多。可能原因：（a. 样品匀浆时加的试剂量太少或组织量过多；b.样品中含有有机溶剂）

Background

TRIzol 试剂是一种可以从动植物样品中提取 RNA 的产品。样品可以完全溶解 TRIzol 试剂。在匀浆或裂解样品期间，它可以保持 RNA 的完整性，裂解细胞并溶解细胞内含物。 TRIzol 试剂具有很强的广谱性，可以应用于 从各种样品中提取总 RNA。提取过程方便快捷，整个过程 一小时内即可完成操作。该试剂可用于小样本（50-100 mg 组织，$1x10^6$ 细胞），也适用于大样本（≥1g 组织，> 10^7 细胞）。适用于人类，动物，植物组织， 和细菌，并且可以同时处理大量不同的样本，并且整个提取过程 这个过程可以在一小时内完成。分离的总 RNA 蛋白质和 DNA 污染极低，可用于 Northern Blot、反转录、ployA 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和基因克隆。