

# Trizol 总RNA提取试剂

**Gecell**  
Version 09/22

目录号：7101

## 保存条件

4°C避光保存，常温保存 2 个月不影响使用。

## 产品组分

组分	规格
Trizol	100 ml

\*本产品中含有苯酚，具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会引起中毒、灼伤及其他身体伤害，使用时应穿戴防护物，如防护服装、手套、眼罩、面罩等。如果不小心接触到眼睛时，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。

## 产品介绍

Trizol 是一种用于各种动植物组织、细菌、细胞、全血、病毒液总 RNA 抽提试剂，具有极强的裂解能力，可在短时间内裂解细胞和组织样本，并有效抑制样本中 RNA 的降解，保持 RNA 的完整性。样品在该试剂中能够充分裂解，之后加入氯仿离心分层，形成上层、中间层和有机层(红色下层)，RNA 分布在上层水相中，收集上层后，经异丙醇沉淀便可得到总 RNA。提取的总 RNA 纯度高，基本不含蛋白质及基因组 DNA，可直接用于 Northern、点杂交、mRNA 纯化、体外翻译、RT-PCR、poly(A)+选择、RNA 酶保护分析以及构建 cDNA 文库等多种分子生物学实验。

此外，样品中的 DNA 和蛋白也能以沉淀的方式还原。乙醇沉淀能析出中间层的 DNA，而在有机层中加入异丙醇能沉淀出蛋白。

Trizol 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锭染色，可见许多介于 7 kb 和 15 kb 之间不连续的高分子量条带 (mRNA 和 hnRNA 成分)，两条优势核糖体约 5 kb (28S) 和约 2 kb (18S)，低分子量 RNA 介于 0.1 和 0.3 kb 之间 (tRNA, 5S)，当抽提的 RNA 用 TE 稀释时其 A260/A280 比值 $\geq$ 1.8。

## 注意事项

1. 需自备氯仿、异丙醇、75%乙醇、RNase-free H<sub>2</sub>O。
2. 样品用 Trizol 匀浆后，在加入氯仿前，可在-70°C冻存一个月以上（注意正确操作是样品充分裂解之后再冻存）。
3. RNA 沉淀在 75%乙醇中，4°C可保存 1 周，-20°C可保存 1 年。

## 标准抽提步骤

### 1. 样品匀浆

- a) 动物/植物组织：将组织在液氮中充分研磨，每 30-100 mg 组织中加入 1 ml Trizol 匀浆。
- b) 单层培养细胞：向直径 3.5 cm 的培养板/瓶中加入 1 ml Trizol (按培养板面积而不是细胞数决定加入量，每 10 cm<sup>2</sup> 加入 1 ml)，用移液器轻轻反复吸打裂解细胞至 溶液透明。
- c) 细胞悬液：离心取细胞，弃上清，每 5-10×10<sup>6</sup> 动物/植物/酵母细胞或每 10<sup>7</sup> 细菌细胞加入 1 ml Trizol 混匀裂解细胞。加入 Trizol 前不要洗涤细胞，以免 降解 mRNA。一些酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪处理。
- d) 血液与病毒液处理：直接取新鲜的血液或病毒液，加入 3 倍体积 Trizol (推荐 0.25 ml 全血或病毒液加入 0.75 ml Trizol 试剂)，充分振荡混匀。

2. 将匀浆样品在室温 (15-30°C) 放置 5 min，使得核酸蛋白复合物完全分离。

3. 可选步骤：4°C，12,000 rpm (~13,400×g)离心 5 min，取上清，转入一个新的 RNase-free 离心管中。

**注意：如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖或肌肉、植物结节部分等，可离心除去。离心得到的沉淀中包括细胞外膜、多糖、高分子量的 DNA，上清中含有 RNA。处理脂肪组织样品时，上层是大量油脂，应除去，取澄清的匀浆溶液进行下一步操作。**

4. 加入 200 μl 氯仿，盖好管盖，剧烈振荡 15 s，室温放置 3 min。

5. 4°C，12,000 rpm 离心 10 min。匀浆会分为三层：下层有机相，中间层和上层无色的水相。RNA 存在于水相中。水相层的体积大约为所加 Trizol 体积的 50%，把水相转移到新的离心管中。

6. 在得到的水相溶液中加入等体积异丙醇，颠倒混匀，室温放置 10 min。

7. 4°C，12,000 rpm 离心 10 min，弃上清，一般在离心后在离心管底部会出现 RNA 沉淀。

8. 加入 75%乙醇 (用 RNase-free 水配制) 洗涤沉淀。每使用 1 ml Trizol 用 1 ml 75%乙醇对沉淀进行洗涤。

9. 4°C 12,000 rpm 离心 3 min，小心吸弃上清，注意不要吸弃 RNA 沉淀。

10. 打开离心管盖，室温干燥沉淀几分钟。沉淀干燥后加入适量 RNase-free H<sub>2</sub>O，充分溶解 RNA，得到的 RNA 保存在-70°C，防止降解。

**注意：沉淀不要完全干燥，也不能加热干燥或离心沉淀，否则 RNA 会很难溶解。**