

目录号: 7103

保存条件 4°C 保存 2 年。

## 产品组分

组分	规格
Easy Trizol-III Reagent	50ml / 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

本品广泛适用于从各种动物组织、幼嫩植物、培养细胞、细菌、酵母等样品中分离纯化总 RNA 和 Small RNA。本品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。

与传统 Trizol 提取方法相比，本品无需添加氯仿，用法简单且全程可在常温进行，提取的总 RNA 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。

## 注意事项

1. 自备异丙醇、75%乙醇（用 RNase-free H<sub>2</sub>O 配制）、RNase-free H<sub>2</sub>O。
2. 所有离心步骤均在室温下进行。
3. 请穿实验服并佩戴一次性手套口罩操作，避免 RNase 污染。
4. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品；

## 标准抽提步骤

1. 样品匀浆

### A 动物/植物组织:

将组织在研钵中用液氮充分研磨成粉末，取 **25-50 mg** 粉末，加入 **500 µl Trizol-III Reagent** 盖好管盖，用力振荡混合均匀。

### B 单层培养细胞:

弃去培养基，向直径 3.5 cm 的培养板/瓶中加入 **500 µl Trizol-III Reagent**（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 **500 µl**），用移液器轻轻反复吸打裂解细胞至溶液透明，吸取匀浆液到一个 1.5 ml 离心管中。

### C 细胞悬液:

离心收集细胞, 弃尽上清, 每  $1-5 \times 10^6$  个细胞加入 **500  $\mu$ l Trizol-III Reagent**, 用移液器反复吸打直至充分裂解。

**注意: 加入 Trizol-III Reagent 前不要洗涤细胞, 以免降解 mRNA。一些酵母和细菌可能需要匀浆仪或液氮研磨破壁处理。**

2. 向匀浆液中加入 **2/5 体积的 RNase-free H<sub>2</sub>O** (每 500  $\mu$ l Trizol-III Reagent 加入 200  $\mu$ l RNase-free H<sub>2</sub>O), 盖好管盖, 用力振荡 15 s 混匀, 此时会出现絮状沉淀 (如未有沉淀, 可加至 250  $\mu$ l RNase-free H<sub>2</sub>O) 室温孵育 5 min。

3. **室温 12,000 rpm 离心 15 min**。此时溶液分成上层水相 (含 RNA) 和深色的下层沉淀 (含蛋白质、DNA、多糖等杂质), 小心吸取上层水相至一个新的离心管中。

**注意:**

① **上层水相体积约占总体积的 90%, 如用 500  $\mu$ l Trizol-III Reagent 提取, 上层水相约为 640  $\mu$ l, 建议吸取 500  $\mu$ l 进行后续操作; 针对微量的样本进行提取时, 为减少 RNA 损失, 可以全部转移上清。**

② **当样本量较小时, 离心后可能不会出现下层沉淀, 属于正常现象, 可继续按后续步骤完成提取。**

4. 加入等体积异丙醇, 上下颠倒充分混匀, 室温静置 10 min。

5. **室温 12,000 rpm 离心 10 min**, 通常可见白色 RNA 沉淀, 小心弃去上清。

**注意: RNA 沉淀在离心前通常不可见, 离心后在管侧壁和管底形成薄片状沉淀 (样品量少的情况下, RNA 沉淀散在管侧壁和管底有可能看不到明显沉淀)。部分组织材料由于含有较多的代谢产物, 导致沉淀不能聚集而分散在离心管壁上, 此时, 请沿液面缓慢吸弃上清。**

6. 加入 1 ml 75%乙醇 (用 RNase-free H<sub>2</sub>O 配制) 漂洗沉淀, 涡旋振荡 5 s 让沉淀悬浮起来并上下颠倒数次。

7. **室温 12,000 rpm 离心 3 min**, 小心弃去上清。

8. 重复步骤 6 和 7 一遍。

**注意: 弃去大部分上清后, 建议短暂离心将残留液体甩至管底, 用 200  $\mu$ l 吸头吸尽残留的乙醇, 保留管底及侧壁的白色 RNA 沉淀。**

9. 打开离心管盖, 室温放置晾干 (晾干 1 min 左右即可, 不要晾的过干, RNA 完全干燥后很难溶解)。根据实验需要, 加入 **30-100  $\mu$ l RNase-free H<sub>2</sub>O**, 涡旋 3 min (或使用移液器反复吸打管底和管壁的沉淀帮助溶解), 得到的 RNA 溶液保存在 -70°C, 防止降解。

**注意: 从某些样本提取 RNA 时, RNA 沉淀并非完全聚集在离心管管底, 而是以均匀的薄雾状沉淀吸附在管侧壁上。请注意仔细观察, 并用移液器吹打管底和沉淀所在的管侧壁充分溶解所有的 RNA。**