

描述: TRIzol Reagent 是一种可提取动植物样品中 RNA 的制品。样品在 TRIzol Reagent 中能够充分被裂解, 在样品匀浆或裂解过程中, 它可保持 RNA 的完整性, 同时裂解细胞, 溶解细胞内含物。TRIzol Reagent 具有很强的广谱性, 可以适用于各种样品的总 RNA 提取, 提取过程方便快捷, 整个操作在一小时内便可以完成。该试剂可用于小量样品 (50-100 mg 组织、 1×10^7 细胞) 也适用于大量样品 (≥ 1 g 组织、 $>10^9$ 细胞)。对人、动物、植物组织均适用, 可同时处理大量不同样品, 整个提取过程在一小时内即可完成。分离的总 RNA 中蛋白质和 DNA 污染极低, 可用于 Northern Blot、反转录、NGS 建库等试验。

TRIzol LS Reagent 专用于液体样本的 RNA 提取, 与 TRIzol 相比, 唯一区别在于其组分浓度, TRIzol LS 是浓缩试剂, 允许加入更多体积的液体样本。因此其尤其适用于, 如病毒液、拭子液、灌洗液、抗凝全血、血清、血浆等液体样本。除此外, 组织样本采用钢珠研磨的组织悬液, 也适合采用该试剂来提取总 RNA。

储存: 2-8℃ 避光保存, 可保存 2 年。

注意: 该试剂含有强变性剂, 请勿直接于皮肤接触或吞咽, 若接触到皮肤或眼睛请尽快到医院处理。实验时务必穿实验服, 戴手套。

样本量及 RNA 产量

样本	推荐样本量	RNA 产量
肝脏	30~75 mg	200~400 μ g
脾、肾	30~75 mg	10~50 μ g
脑、肌肉	30~75 mg	10~25 μ g
培养细胞	$10^6 \sim 10^7$ 个	20~100 μ g
新鲜叶片	30~75 mg	5~20 μ g
根、茎、果实	30~100 mg	5~25 μ g

2 操作方法 (样本准备)

2.1 贴壁培养细胞: 将 10 cm^2 生长的培养细胞中的培养液倒出, 用 PBS 清洗一次, 尽可能移除多余的溶液。加入 1 ml TRIzol, 使裂解液均匀分布于细胞表面, 然后使用移液枪吹打细胞使其脱落。将裂解液转移至 1.5 ml EP 管中。

2.2 贴壁培养细胞: 将悬浮培养细胞连同培养液一起倒入离心管中, 6000rpm 离心 2min, 弃上清, 加入 50 μ l 无菌水重悬细胞。并加入 1 ml 的 TRIzol 旋涡混合 15s。

2.3 动植物组织样本: 将液氮研磨的组织样品 50~100 mg, 加入到 1.5 ml EP 管中, 并加入 1 ml 的 TRIzol 旋涡混合 15s。

3 操作方法 (分离提取)

3.1 上述裂解物, 室温静置 5min, 使核酸蛋白复合物完全分离。向裂解物中加入, 200 μ l 的氯仿或氯仿替代物(货号: B0202)。旋涡混合 15s, 室温静置 2min。

3.2 将 1.5 ml EP 管置于离心机中, 13000rpm 离心 10min。此时溶液分层, 吸取 600 μ l 的上层无色上清液到新的 1.5ml EP 管中, 并加入等体积 600 μ l 的异丙醇, 手腕用力上下颠倒数次, 于 -20℃ 放置 5min。

注意: 吸取上层无色液体时, 切勿吸入中间白色沉淀层, 否则会导致蛋白污染。

3.3 将 1.5 ml EP 管置于离心机中 13000rpm 离心 10min, 小心倒掉上清, 留取底部总 RNA 沉淀。向 RNA 沉淀中加入 1 ml 的 70%乙醇, 上下颠倒数次进行洗涤, 13000rpm 离心 5min, 小心倒掉上清, 留取底部 RNA 沉淀。再次加入 1 ml 的 70%乙醇, 重复此洗涤步骤一次。

3.4 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)。

3.5 加入 20~100 μ l TE Buffer 或 RNase Free H_2O 溶解沉淀 RNA。溶解的 RNA 冷冻保存。通常 RNA 的浓度为 0.1~2 μ g/ μ l, OD260/280 约 1.9~2.1。

4 常见问题分析

4.1 抽提率低。可能原因: (a. 样品裂解或匀浆处理不彻底; b. RNA 沉淀未完全溶解)

4.2 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 μ l; d. 吸取水相时混入了有机相)

4.3 DNA 污染过多。可能原因: (a. 样品匀浆时加的试剂量少或组织量过多; b. 样品中含有有机溶剂)