

## Total RNA Isolation Reagent

### 总 RNA 提取试剂

产品编号	产品名称	规格
BS259A	总 RNA 提取试剂	100 ml

#### 产品简介:

本产品采用和 Invitrogen 公司的 Trizol 相似的原理和方法, 抽提的方法和步骤完全相同, 用于细胞或组织总 RNA 抽提的试剂。TRI Reagent 能很好提取动物细胞或组织及细菌的总 RNA, 但对植物组织 RNA 的提取有选择性。模式植物(拟南芥, 小麦, 烟草, 玉米, 大豆)能提取较好的 RNA。一些多糖多酚含量高的植物(西红柿, 银杏, 梧桐, 毛白杨, 棉花等)叶片使用 TRI Reagent 不能提取 RNA。

TRI Reagent 可以抽提长达 15 kb 的 RNA, 也可以抽提 microRNA 等小 RNA, 抽提小 RNA 时宜-70℃沉淀过夜。

TRI Reagent 抽提所得 RNA 无 DNA 和蛋白污染。每一百万细胞约可得 5-15μg RNA; 每毫克组织约可得 1-10μg RNA, 产量因细胞和组织不同而异。

TRI Reagent 抽提所得 RNA 可直接用于 Northern, 点杂交, 纯化 mRNA, 体外翻译, RNase protein assay, cDNA 克隆以及 RT-PCR, 也可用于基因表达芯片分析, 高通量测序等对 RNA 质量较高的情况。

#### 使用方法:

##### 1、细胞裂解或组织匀浆。

(1) 贴壁细胞: 吸尽培养液, 每 10cm<sup>2</sup> 细胞加入 1ml TRI Reagent。一般 6 孔板每孔加 1ml, 12 孔板每孔加 0.5ml, 晃动 3-5 下, 再用枪吹打 2-3 下, 确保全部裂解, 然后吸至离心管中。

(2) 悬浮细胞: 离心收集细胞, 吸尽液体, 每五百万至一千万动植物或酵母细胞或一千万细菌, 加入 1ml TRI Reagent。用枪吹打或适当 vortex, 确保全部裂解。某些酵母和细菌如裂解不充分, 可用匀浆器匀浆, 确保全部裂解。

##### (3) 组织

1) 植物组织: 植物叶片直接放入研钵中, 加入少量液氮, 迅速研磨成粉末, 每 50-100mg 植物叶片加入 1ml TRI Reagent。

**注: 经典模式植物如拟南芥、烟草、小麦、玉米等植物叶片能很好地提取 RNA; 但一些多糖多酚植物, 如西红柿、棉花、毛白杨等, 不能使用 TRI Reagent 提取 RNA。**

2) 动物组织: 按 10-30mg 组织加入 1ml TRI Reagent, 用电动匀浆器或者一次性研磨杵充分匀浆。

2、对于某些蛋白，多糖或脂含量很高的细胞或组织，TRI Reagent 裂解后可能会有不溶物或油脂状漂浮物。需 12,000g，4℃离心 10 分钟，然后吸取澄清的裂解产物至一新的离心管中。

3、室温放置 5 分钟，使样品充分裂解。

4、每毫升 TRI Reagent 加 0.2ml 氯仿，vortex 混匀或猛烈晃动 15 秒，室温放置 2-3 分钟。

5、12,000g，4℃离心 15 分钟，然后吸取含总 RNA 的上层无色水相至一新的离心管中，每毫升 TRI Reagent 约可吸取 0.5-0.55ml。

6、加入与上清等体积的冰冷异丙醇，颠倒数次混匀，室温沉淀 10 分钟。如果希望提取 microRNA 等小 RNA，推荐-70℃沉淀过夜。

7、12,000g，4℃离心 10 分钟，在管底可见 RNA 沉淀，弃上清。

8、每毫升最初的 TRI Reagent 加入 1ml 75%乙醇(DEPC 水配制)，vortex 或颠倒混匀，

9、7,500g 4℃离心 5 分钟，弃上清。再用离心机甩一下 (>5,000rpm，离心 1 秒)，小心吸尽液体。

10、待 RNA 晾干后，加入 20-50 ul DEPC 水溶解，-70℃冻存。注意：切勿让 RNA 过分干燥，否则将极难溶解，且测出的 A260/280 值会低于 1.6。

#### **注意事项：**

1、需自备氯仿，异丙醇，DEPC 水，75%乙醇(DEPC 水配制)。

2、所有离心管，枪头及相关溶液都必须无 RNA 酶污染。耐高温器物可 150℃烘烤 4 小时以去除 RNA 酶，其它器物去除 RNA 酶可考虑用 0.01%的 DEPC 水浸泡过夜，然后灭菌，烘干。溶液需用 DEPC 水配制。

3、使用冻存的细胞或组织抽提总 RNA 的效果通常比新鲜的细胞或组织差一些。因为在细胞或组织冻融过程中一些细胞或组织内的 RNase 会被释放出来并剪切样品。如果不能及时抽提 RNA，推荐先加入适量 TRI Reagent，并裂解样品后冻存。

4、必须戴一次性手套操作，且尽量不要对着 RNA 样品说话，以防 RNA 酶污染。

5、TRI Reagent 含有毒物质苯酚，避免接触皮肤或吸入。为防止溅入眼睛，请戴防护眼镜或使用透明保护屏。如皮肤接触 TRI Reagent，请立即用大量去垢剂和水冲洗，如仍有不适，请听取医生意见。

6、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### **保存方法：**

4℃保存，一年有效。