

## TRAzol

货号/规格: R1021/20 次, R1022/100 次

### 产品简介

TRAzol 可以从动物组织、植物材料、各种微生物以及培养细胞等组织材料中提取总 RNA。样品在 TRAzol 中能够充分被裂解, 在加入氯仿离心后, 溶液会形成上清层、中间层和有机层(下层), RNA 分布在上清层中, 收集上清层后, 经异丙醇沉淀便可以回收得到总 RNA。经本制品提取的总 RNA 纯度高, 基本不含蛋白质及基因组 DNA, 提取的 RNA 可以直接用于 Northern 杂交、斑点杂交、mRNA 纯化、体外翻译、RNA 分解酶的保护分析、RT-PCR、构建 cDNA 文库等各种分子生物学实验。

### 产品组分

组分	R1021 (20 次)	R1022 (100 次)
TRAzol	20 ml	100 ml
说明书	1 份	1 份

需要自备氯仿、异丙醇、RNase-free 75%乙醇、DEPC 处理水 (R2041/R2042)

### 保存条件

室温运输, 2-8℃避光保存。

### 注意事项

- TRAzol 具有腐蚀性, 操作过程中应做好防护, 避免直接接触皮肤或吸入口鼻。沾染后应立即用大量清水冲洗, 必要时请就医处理。
- 严防操作环境、使用的容器、耗材和试剂的 RNase 污染。操作过程中勤换手套。
- 根据起始材料量的不同使用不同体积的溶液(见下表)。过多或过少的使用量都可能影响 RNA 的质量或产量。若起始材料量很少, RNA 预计产量很低, 在异丙醇沉淀时, 可加入 20 mg/ml 肝糖原溶液 0.5-1 μl 促进 RNA 沉淀。
- 不同起始材料试剂用量及 TRAzol 用量。

样品用量	TRAzol 的用量
------	------------

10cm <sup>2</sup> 的贴壁培养细胞	1 ml
10 <sup>7</sup> 的悬浮培养细胞	1-2 ml
100 μl 的白细胞	2 ml
50-100 mg 的普通组织样品	1 ml
50-100 mg 的特殊组织样品(肝、脾、骨及软骨等)	2 ml
15-30 mg 的植物材料(多糖和多酚含量不高的)	1 ml

- 使用本产品提取的 RNA 一般不含有 DNA 污染。在极少数情况下(与组织 pH 值等相关), 如果有 DNA 污染而又必须去除, 则可以用 RNase-free 的 DNase 处理样品。
- 防止 DNA 污染方法: a. 减少样本起始用量, 如将 100 mg 的植物组织减少为 50 mg, 将 30 mg 的动物组织减少为 10 mg;  
b. 在加入 TRAzol 之后加入 5-10 ul 3M NaAc(pH5.2)。
- 请严格遵照操作步骤操作。
- 有关 RNA 的吸光度说明如下:  
260 nm、320 nm、230 nm、280 nm 下的吸光度分别代表了核酸、背景(溶液浑浊度)、盐浓度和蛋白质等有机物的吸光度值。OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> (R) 体现了 RNA 中的蛋白质等有机物的污染程度, 质量较好的 RNA 的 R 值应在 1.8-2.0 之间, 当 R<1.8 时, 溶液中的蛋白质等有机物的污染比较明显; 当 R>2.2 时, 说明 RNA 已经被水解成了单核苷酸。在对核酸进行吸光度检测时, 需要注意稀释液应使用 TE Buffer。
- RNA 浓度 = (OD<sub>260</sub> - OD<sub>320</sub>) × 稀释倍数 × 0.04 μg/μl

### 操作步骤

#### 1. 实验样品的研磨和匀浆

##### A. 贴壁培养细胞

倒出培养液, 用 1X PBS 清洗一次, 每 10 cm<sup>2</sup> 生长的培养细胞中加入 1ml 的 TRAzol, 水平放置片刻, 使裂解液均匀分布于细胞表面并裂解细胞, 然后使用移液枪吹打细胞使其脱落(对于贴壁牢固的培养细胞可用细胞刮勺刮离细胞)。将内含细胞的裂解液转移至离心管中, 用移液枪反复吹吸直至裂解液中无明显沉淀。室温静置 5 min。

##### B. 悬浮培养细胞

将悬浮培养细胞连同培养液一起倒入离心管中, 8,000 rpm, 4℃离心 2 min, 弃上清, 向每 10<sup>7</sup> 个细胞中加入 1-2 ml 的 TRAzol。用移液枪反复吹吸直至裂解液中无明显沉淀, 室温静置 5 min。

### C. 动物组织、植物材料样品

将超低温冻结的 RNA 提取样品称量后迅速转移至用液氮预冷的研钵中，用研杵研磨组织，其间不断加入液氮，直至研磨成粉末状（无明显的可见颗粒，如果没有研磨彻底会影响 RNA 的收率和质量）。对于普通的 RNA 提取样品，可以向研钵中加入适量的 TRIzol，将研磨成粉末状的样品完全覆盖，然后室温静置，直至样品完全融化，再用研杵继续研磨至裂解液呈透明状。对于特殊样品，如肝、脾、骨及软骨等，可以将研磨成粉末状的样品加入到含有适量的 TRIzol 的匀浆管中，把匀浆管置于冰浴中进行匀浆，直至匀浆液呈无颗粒透明状。将匀浆液转移至离心管中，室温静置 5 min。12,000 rpm 4 °C 离心 5 min，小心吸取上清液，移入新的离心管中（切勿吸取沉淀）。

#### 2. Total RNA 的提取

1 向上述步骤中的匀浆裂解液中加入氯仿（TRIzol 的 1/5 体积量），盖紧离心管盖，用力振荡（氯仿沸点低、易挥发，振荡时应小心离心管盖突然弹开）。待充分乳化溶液呈乳白状（无分相现象）后，再室温静置 2 min。

2 12,000 rpm 4 °C 离心 10 min。

3 从离心机中小心取出离心管，此时匀浆液分为三层，即：无色的上清液、中间的白色层及带有颜色的下层有机相，吸取上清液转移至另一新的离心管中（切忌吸出白色中间层）。（如样品含有较多多糖多酚，请增加以下步骤：在上清液中加入 0.2X 上清液体积的 5 M NaCl 及 1X 上清液体积的酚/氯仿（1:1），混匀，12000 rpm 离心 5-10 min，取上清液加入等体积氯仿，混匀，12000 rpm 离心 5-10 min，至第 4 步。）

4 向上清液中加入等体积的异丙醇，上下颠倒离心管充分混匀后，在 15-30 °C 下静置 10 min。

5 12,000 rpm 4 °C 离心 10 min。一般在离心后，试管底部会出现沉淀。

#### 3. RNA 沉淀的清洗

小心弃去上清，缓慢地沿离心管壁加入 75% 的乙醇 1 ml（切勿触及沉淀），轻轻上下颠倒洗涤离心管管壁，12,000 rpm，4 °C 离心 2 min 后小心弃去乙醇（为了更好地控制 RNA 中的盐离子含量，应尽量除净乙醇），重复洗涤一次。

#### 4. RNA 的溶解

室温干燥沉淀 2-5 min（不可以离心或加热干燥，否则 RNA 将会很难溶解），加入适量的 RNase-free 水溶解沉淀，必要时可用移液枪轻轻吹打沉淀，待 RNA 沉淀完全溶解后于 -80 °C 保存。

问：提取的 RNA 不溶怎么办？

答：75% 乙醇清洗沉淀后不要干燥时间过长或加热干燥；可以于 60 °C 加热 5 min 后再于冰上溶解数小时；RNA 沉淀中含有不溶的蛋白质混合物时，应注意在相分离后吸取上清液时，避免枪头接触蛋白层；溶解液更换为 0.5% 的 SDS 溶液（DEPC 处理水配制）。

本品仅供科学研究使用。

### Q&A