



TRlzon Pal™

目录号： CW3166M (100 mL)

保存条件： 0-30℃避光保存

产品内容

Component	CW3166M
TRlzon Pal™	100 mL

产品简介

TRlzon Pal™可与TRlzon Reagent（货号：CW0580S）配合使用，可代替氯仿，对裂解体系进行反复抽提以去除蛋白质，用途广泛，可从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中提取总RNA。样品在TRlzon中被充分裂解的同时能够最大限度地保证RNA的完整性。在加入TRlzon Pal™离心后，溶液会分成三层：上层无色水相、中间层和下层红色有机相，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。提取的总RNA完整性好，无蛋白和DNA污染，可用于各种分子生物学常规实验，如RT-PCR、Real-time RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译等。

自备试剂

TRIzol Reagent（货号：CW0580S）、异丙醇、75%乙醇、无RNase的水（新开封或提取RNA专用）。

实验前准备及重要注意事项

1. 预防RNase污染，应注意以下几方面：
 - 1) 使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染。
 - 2) 玻璃器皿应在使用前于180°C高温下干烤4小时，塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10分钟，用水彻底冲洗后高压灭菌。
 - 3) 配制溶液应使用无RNase的水。
 - 4) 操作人员戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套。
2. 提取的样品避免反复冻融，否则影响RNA提取得率和质量。
3. 本使用本制品时应穿戴防护物品，如防护服装、手套、眼罩、面罩等。如果不小心接触到眼睛，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。注意：使用时远离火种、热源。
4. 保存在75%乙醇中的RNA沉淀，2-8°C可以保存一周，-20°C条件下可以保存1年。RNA半衰期比较短，容易降解，建议提取后尽快进行后续实验，如反转录成cDNA，Northern Blot等。
5. 若下游实验对DNA非常敏感，建议用不含RNase的DNase I（货号：CW2090A）对RNA进行处理。

操作步骤

1. 各种材料的处理
 - 1a. 植物组织：取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在TRIzol中迅速研磨，每30-50 mg组织加入1 mL TRIzol，混匀。
注意：样品体积一般不要超过TRIzol体积的10%。
 - 1b. 动物组织：取新鲜或-70°C冻存的动物组织尽量剪碎，每30-50 mg组织加入1 mL TRIzol，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入TRIzol 1 mL混匀。
注意：样品体积一般不要超过TRIzol体积的10%。

1c. 单层培养细胞：吸去培养液，可直接在培养板中加入适量TRIzol（每10 cm²面积需要1 mL TRIzol），用取样器反复吹打使细胞裂解。也可用胰蛋白酶处理后，将细胞溶液转移至RNase-Free的离心管中，300×g离心5 min，收集细胞沉淀，仔细吸除所有上清，加入TRIzol 1 mL混匀。

注意：1）收集细胞数量不要超过1×10⁷。

2）TRIzol加量根据培养板面积决定，不是由细胞数决定。如果TRIzol加量不足，可能导致提取的RNA中有DNA污染。

3）收集细胞时一定要将细胞培养液去除干净，否则会导致裂解不完全，造成RNA的产量降低。

1d. 细胞悬液：离心收集细胞。每5×10⁶-1×10⁷动物、植物和酵母细胞或每10⁷细菌细胞加入1 mL TRIzol。

注意：1）加入TRIzol前不要洗涤细胞，以免RNA降解。

2）一些酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪或液氮研磨处理。

1e. 血液处理：直接取新鲜的血液，加入3倍体积TRIzol（推荐0.25 mL全血加入0.75 mL TRIzol），充分振荡混匀。

1f. 可选步骤：对于蛋白、脂肪、多糖或胞外物质含量高的样品，如肌肉组织、脂肪组织或植物的块茎，可以在匀浆处理后4℃，12,000 rpm（~13,400×g）离心10分钟以除去不溶物质，此时沉淀中含胞外物质、多糖和高分子量的DNA，而RNA存在于上清中。

2. 样品中加入TRIzol后反复吹打几次，使样本充分裂解。室温放置5分钟，使蛋白核酸复合物完全分离。

3. 向以上溶液中加入TRIzol Pal™，每使用1 mL TRIzol加入0.2 mL TRIzol Pal™，盖好管盖，剧烈振荡15秒，室温放置2-3分钟。

4. 4℃ 12,000 rpm离心15分钟，此时样品分成三层：红色有机相，中间层和上层无色水相，RNA 主要在水相中，把水相（约600 μL）转移到一个新的RNase-Free离心管（自备）中。

5. 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分钟。

6. 4℃ 12,000 rpm 离心10分钟，弃上清。

7. 加入75%乙醇（用无RNase的水配制）洗涤沉淀。每使用1 mL TRIzol用1 mL 75%乙醇对沉淀进行洗涤。

8. 4℃ 12,000 rpm离心3分钟，小心吸弃上清，注意不要吸弃RNA沉淀。
注意：剩余的少量液体可短暂离心，然后用枪头吸出，注意不要吸弃沉淀。
9. 室温放置2-3分钟，晾干。加入30-100μL无RNase的水，充分溶解RNA，得到的RNA保存在-70℃，防止降解。
注意：沉淀不要过分干燥，以免难于溶解。