

YOBIBIO TRezol Reagent总RNA提取试剂

产品介绍:

TRezol是广谱型总RNA提取试剂。实验操作快速方便，颜色鲜明，便于分层。本试剂适用范围广泛，可以从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中提取总RNA。该方法对少量的组织(50-100mg)和细胞(5×10^6)以及大量的组织($\geq 1g$)和细胞($> 10^7$)均有较好的分离效果。样品在TRezol中被充分裂解的同时能够最大限度地保证RNA的完整性。在加入氯仿离心后，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。

TRezol 试剂能促进不同种属不同分子量大小的多种RNA的析出。例如，从大鼠肝脏抽提的RNA琼脂糖凝胶电泳并用溴化乙啶染色，可见许多介于7kb和15 kb之间不连续的高分子量条带(mRNA和hnRNA成分)，两条优势核糖体~5 kb(28S)和~2 kb(18S)，低分子量RNA介于0.1和0.3 kb之间(tRNA, 5S)。当抽提的RNA用TE稀释时其A260/A280比值 ≥ 1.8 。(注意如果是琼脂糖凝胶电泳，28S的位置大约在2kb，18S大约在1kb的位置，不同浓度的凝胶位置变化较大。)

规格包装:

产品规格：(备注：以下为常用规格，更多规格可根据客户需求定制)

产品货号	产品名称	产品规格
U1011-100	YOBIBIO TRezol Reagent总RNA提取试剂	100ML
U1012-200		200ML

产品特点:

一份样品同时提取RNA、DNA和蛋白质

具有出色的裂解能力

适用于组织、细胞、血清、病毒和细菌等多种样品类型适用于小量样品 (50-100mg组织、 5×10^7 细胞) ，

适用于大量样品 ($\geq 1g$ 组织或 $\geq 1 \times 10^7$ 细胞) 。

维持RNA的完整性

从多种样本体积和来源获得可靠的纯化RNA 稳定性高，易保存，有效期长

高效性操作简单快捷

适用于多个分子靶点的提取

注意事项:

1.样品用TRezol匀浆后，如果不即刻加入氯仿之前，置于-70°C下可放置一个月以上。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。

2.若下游实验对DNA非常敏感，建议用 RNase free DNase I对RNA进行处理。

3. 自备试剂: 氯仿、异丙醇 (新开封或提取RNA专用)、75%乙醇(用DEPC处理过的水配制)、RNase free water或者DEPC处理过的水。

操作步骤:

提示: 用TRzol抽提RNA时要戴手套和防护罩。避免接触皮肤和衣服。在化学通风橱完成操作。避免呼吸道吸入。如无特殊说明, 所有的操作应该在在15~30°C的室温条件下。

匀浆

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TRzol中迅速研磨, 每50-100mg组织加入1ml TRzol, 混匀。注意: 样品体积一般不要超过TRzol体积的10%。

动物组织: 取新鲜或-70°C冻存动物组织尽量剪碎, 每30-100mg组织加入1ml TRzol, 匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入TRzol 1ml混匀。注意: 样品体积一般不要超过TRzol体积的10%。

单层培养细胞: 尽量去除干净残留培养液后直接往直径3.5 cm的培养板中加入1ml 的TRzol覆盖并反复吹打裂解细胞。依据培养板的面积而不是依据细胞的数量来决定所需的TRzol 量(每10cm²加1ml)。当TRzol 量不足时可导致抽提的RNA中污染有DNA。注意: 贴壁培养细胞往往不能完全从培养瓶(皿)脱落, 这并不意味着裂解不完全, 此时细胞膜实际已经完全破裂开, 并已释放出全部RNA, 继续做即可。

细胞悬液: 离心收集细胞。在TRzol 试剂中用移液管反复吹打来裂解细胞。每5~10×10⁶的动物细胞, 植物或酵母菌细胞或每1×10⁷细菌加1ml的TRzol。在加入TRzol 前应避免洗涤细胞, 因为那样会增加mRNA降解的可能性。破裂某些酵母菌和细菌可能需要使用匀浆器。

血液: 推荐使用本公司的TRzol Reagent LS(货号: B102), 这是全血或者液体样品专用的TRzol Reagent, LS就是Liquid Sample 液体样品的首字母缩写。

将匀浆样品剧烈震荡后在室温条件下放置5分钟以使核蛋白体完全解离。

可选步骤: 在4°C的条件下以12,000 rpm的离心力离心10分钟, 取上清。

如样品中含有较多蛋白质, 脂肪, 多糖或肌肉, 植物的块茎结节等可离心去除。离心后的沉淀中包含有细胞外膜, 多糖, 以及高分子量DNA, 上清中含有RNA。处理脂肪组织的样品时, 上层是大量油脂 应除去。取澄清的匀浆液进行下一步。

每1ml TRzol加0.2ml氯仿。盖紧管盖, 剧烈震荡15秒并将其在室温下放置2~3分钟。

在4°C 12,000 rpm的离心力高速冷冻离心10-15分钟。离心后混合物分成三层: 下层红色有机苯酚氯仿层, 中间层, 上层无色的水样层。RNA无一例外地存在于水样层当中。水样层的容量大约为所加TRzol 容量的50-60%。

(有机层和中间层是蛋白和DNA, 如果需要提取, 请联系我们索取提取方法)。

将水样层转移到一干净的离心管中, 加入等体积异丙醇。颠倒混匀后室温放置10分钟。RNA沉淀在离心前通常不可见, 离心后在管侧和管底形成胶状沉淀。

在室温或者4°C 12,000 rpm 离心10分钟, 弃上清。

加入75%乙醇洗涤沉淀。每使用1ml TRzol用1ml 75%乙醇对沉淀进行洗涤。

在室温或者4°C 12,000 rpm离心3分钟, 弃上清, 注意不要丢失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。

室温放置2-3分钟, 晾干。加入30-100µl RNase free water, 充分溶解RNA, 得到的RNA保存在-70°C, 防止降解。注意: 沉淀不要过分干燥, 以免难于溶解。



更多产品咨询与订购请访问: