

TriZol LS

HX3028

产品简介

TriZol LS 是一种用于血液和多种动植物液体样品等总 RNA 抽提的试剂。可从同一份样品中分别提取 RNA、DNA 和蛋白质。使用 TriZol LS 试剂对样品裂解后，加入氯仿，裂解液分为透明的上层水相层（含 RNA）、中间层和紫红色的下层有机层（含有 DNA 和蛋白质），紫红色指示便于吸取上层水相。然后用异丙醇从水相层中沉淀出 RNA，用乙醇从中间层/有机层中沉淀出 DNA，用异丙醇从 DNA 沉淀后的上清液中沉淀出蛋白质。TriZol LS 对动植物及细菌来源的液体样品的总 RNA 抽提均适用，抽提所得 RNA 无 DNA 和蛋白污染，通常所得 RNA 溶于 DEPC 水后的 A260/280 值为 1.8-2.0。裂解液体样品时，可以充分抑制 RNase 的活性，从而保持样品中 RNA 的完整性，即可以有效抑制 RNA 的降解。每一百万细胞液体样品用 TriZol LS 抽提可得约 5-15 μg RNA，每毫升小鼠或人血液抽提可得 15-20 μg RNA。抽提获得的 RNA 的量，因细胞液体样品和血液不同而异，抽提两个样品约需一小时。抽提所得 RNA 可直接用于 RT-PCR、RT-qPCR、cDNA 克隆、Northern，点杂交，纯化 mRNA，体外翻译，RNase protection assay；也可以用于高通量测序、基因表达芯片分析等对 RNA 质量要求较高的情况。本产品抽提效果稳定、完整性好。本产品经过反复优化，抽提得到的 RNA 可以去除绝大多数基因组 DNA (gDNA) 污染，稳定性强，完整性好。

产品应用

用于血液和多种动植物液体样品等总 RNA 抽提的试剂。可从同一份样品中分别提取 RNA、DNA 和蛋白质。

储存条件

4°C 避光保存，一年有效。

产品信息

组分编号	组分名称	规格	
HX3028	TriZol LS 试剂	100 ml	200 ml

注意事项

1. 对于组分较为复杂的液体样品（例如全血）建议先使用无 RNA 酶的 PBS 或水进行适当稀释，再按比例加入 TriZol LS 进行抽提。

2. 需自备氯仿或者氯仿替代品, 异丙醇, 75%乙醇 (DEPC 水或超纯水配制), 无 RNA 酶 PBS 和 DEPC (用于相关器皿去除 RNase 污染)、DEPC 水 (DNase、RNase free, Sterile) 等。
3. 如需提取 DNA, 需自备含 0.1M 柠檬酸钠溶液 (pH8.5) 的 10%乙醇和 8mM 氢氧化钠; 如需提取蛋白质, 需自备含 0.3 M 盐酸胍的 95%乙醇和 1% SDS 溶液。
4. 所有离心管, 吸头及相关溶液都必须无 RNA 酶污染。耐高温器物可 150°C 烘烤 4 h 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。
5. TriZol LS 试剂用于处理血液、病毒等液体样品, 不建议直接用于固体组织或贴壁细胞等样品, 否则会导致 RNA 抽提效率降低。
6. 对于固体组织或贴壁细胞等样品推荐使用 Trizol, 或者消化重悬后或匀浆后再使用本产品。
7. 使用冻存的液体样品抽提总 RNA 的效果通常比新鲜的液体样品差一些。因为在液体样品冻融过程中一些液体样品内的 RNase 会被释放出来并剪切样品中的 RNA。如果不能及时抽提 RNA, 推荐先加入适量 TriZol LS, 并充分裂解样品后冻存。
8. 必须戴一次性手套操作, 且尽量不要对着 RNA 样品呼气或说话, 以防 RNA 酶污染。建议戴一次性口罩操作。
9. TriZol LS 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, 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。
10. TriZol LS 与液体样品的体积比始终保持为 3:1。样品稀释推荐用无 RNA 酶 PBS, 如果用无菌水, 会增加 RNA 降解的可能性。
11. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品, 不得存放于普通住宅内。为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. 样品处理:

- a. 对于液体样品 (血清、血浆、血液、病毒等)。按照 1:3 体积比添加 TriZol LS, 即每 0.25 ml 液体样品加入 0.75 ml TriZol LS, 用移液器轻柔吹打多次或颠倒数次混匀至溶液完全澄清、无粘稠物。对于组分较为复杂的液体样品 (例如全血) 建议先使用无 RNA 酶的 PBS 进行适当稀释, 再按比例加入 TriZol LS 进行抽提。例如 0.1 ml 全血样品加入 0.15 ml PBS 后为 0.25 ml, 然后加入 0.75 ml TriZol LS。对于无需稀释或稀释后但体积不足 0.25 ml 的样品, 建议使用无 RNA 酶的 PBS 将样品体积调整为 0.25 ml, 或根据样品体积按照相应比例调整后续所使用试剂的体积。
- b. 对于细胞悬液。离心收集细胞, 吸尽液体, 每 100 万至 200 万动植物细胞、酵母或细菌, 加入 0.25 ml 无 RNA 酶的 PBS 重悬细胞。取 0.25 ml 细胞悬液加入 0.75 ml TriZol LS 用枪吹打或适当 vortex, 确保全部

裂解。

注：某些酵母和细菌如裂解不充分，可使用研磨仪进行匀浆处理，确保全部裂解。

- c. 对于组织样品。取 20-80 mg 组织，液氮冷冻后研磨成粉末，然后加入 0.25 ml 无 RNA 酶的 PBS 和 0.75 ml TriZol LS 的预混液，充分裂解组织。对于 RNA 完整性要求不是非常高的情况，可以免于液氮冷冻和研磨，对于相应的组织样品，加入 1 ml PBS 和 TriZol LS 预混液 (1:3)，使用研磨仪进行研磨，直至充分裂解。

2. RNA 的提取：

- a. 对于某些蛋白，多糖或脂含量很高的细胞或组织，TriZol LS 裂解后可能会有不溶物或油脂状漂浮物。须 12,000×g 4°C 离心 10 min (或 15,000×g 4°C 离心 5 min)，然后吸取澄清的 TriZol LS 裂解产物至一新的离心管中。
- b. 每 0.75 ml TriZol LS 加入 0.2 ml 氯仿或 RNA Extraction Buffer (氯仿替代品)，vortex 混匀或剧烈晃动 15 sec，室温放置 2-3 min。
- c. 12,000×g 4°C 离心 15 min，然后吸取含总 RNA 的上层无色水相至一新的离心管中，每 0.75 ml TriZol LS 建议吸取约 0.5 ml，需避免吸到中间层造成 DNA 污染。
- d. 按每 0.75 ml 最初的 TriZol LS 加入 0.5 ml 异丙醇，颠倒数次混匀，室温沉淀 10 min。如果样品量非常少或者希望充分沉淀小 RNA，可以-80°C 冻存至少 1 h 以上，以提高沉淀效率。
- e. 12,000×g 4°C 离心 10 min，在管底或邻近管底的侧壁处可见 RNA 沉淀，弃上清。
- f. 每 0.75 ml 最初的 TriZol LS 加入 1 ml 75%乙醇 (DEPC 水或超纯水配制)，vortex 或颠倒混匀。
- g. 7,500×g 4°C 离心 5 min，弃上清。再用离心机甩一下 (>5,000 rpm，离心 1 sec)，小心吸尽液体，注意不要吸到管底或侧壁的 RNA 沉淀。
- h. 待 RNA 略干后，加入 20-50 μl DEPC 水 (DNase、RNase free) 或超纯水溶解，-80°C 冻存。

注：切勿让 RNA 过分干燥，否则将极难溶解，且测出的 A260/280 值可能会低于 1.6。

3. DNA 的提取：

- a. 接 RNA 提取步骤 2d，离心分层后，尽可能去除上层的水相后，保留中间相和红色有机相 (下层)。
- b. 每 0.75 ml TriZol LS 加入 0.3 ml 无水乙醇，颠倒数次混匀。室温孵育 2-3 min。
- c. 2,000×g 在 4°C 离心 5 min 以沉淀 DNA，吸除上清。上清可能需要酌情保留，用于后续蛋白质的提取。

注：如果后续需提取蛋白质，吸取上清至一新的离心管中，-80°C 可存放 1-2 个月，操作步骤见步骤 4。

- d. 用 1 ml 含 0.1 M 柠檬酸钠溶液 (pH8.5) 的 10%乙醇洗涤 DNA 沉淀。室温孵育 30 min，期间轻柔颠倒混匀 2-3 次。

注：DNA 在上述 10%乙醇中 2 h 内稳定。

e. 2,000×g 在 4°C 离心 5 min, 弃上清。

f. 重复步骤 3d-e 步骤一次。

注: 对于 >200 μg 的 DNA, 步骤 3d-e 须重复两次, 即共计 3 次。

g. 每最初 0.75 ml TriZol LS 加入 1.5 ml 75%乙醇洗涤 DNA 沉淀, 室温孵育 10-20 min, 期间轻柔颠倒混匀 2-3 次。

注: 加入 75%乙醇的 DNA 沉淀在 4°C 可存放 1-2 个月。

h. 2,000×g 在 4°C 离心 5 min, 弃上清。

i. 室温放置晾干 DNA 沉淀数分钟, 无明显液体后, 加入适量 DNA 溶解液 (8 mM 氢氧化钠) 或自行选择的适当溶液溶解。可 60°C 温浴或适当增加 DNA 溶解液的量以促进 DNA 溶解。

注: 提取的 DNA 沉淀可能不易溶于水和中性 Tris 缓冲液中, 因此建议使用温和碱性溶液溶解 DNA。后续可以在溶解后再调节 pH 至适当的 pH 值。

4. 蛋白质的提取:

a. 接 DNA 提取步骤 3c, 取沉淀 DNA 后的上清。

b. 每最初 0.75 ml TriZol LS 加入 1.5 ml 无水异丙醇, 室温孵育 10 min。

c. 12,000×g 在 4°C 离心 10 min, 弃上清。

d. 用含 0.3 M 盐酸胍的 95%乙醇作为洗涤液洗涤蛋白质沉淀。每最初 0.75 ml TriZol LS 加入 1.5 ml 洗涤液, 室温孵育 20 min。

注: 蛋白质在上述洗涤液中, 4°C 可保存一个月, -20°C 可保存一年。

e. 7500×g 在 4°C 离心 5 min, 弃上清。

f. 重复步骤 4d-e 2-3 次。

g. 每最初 0.75 ml TriZol LS 加入 1.5 ml 无水乙醇, Vortex 混匀。室温孵育 20 min。

h. 7500×g 在 4°C 离心 5 min, 弃上清。

i. 室温放置晾干蛋白质沉淀 5-10 min, 用 200 μl 蛋白溶解液 (1% SDS 溶液) 溶解蛋白质, 反复吸打, 可 50°C 温浴以促使其完全溶解。

j. 10,000×g 在 4°C 离心 10 min 去除不溶物。

k. 分离得到的蛋白质样品可用于下游实验或 -20°C 保存备用。