

高效TRIZOL裂解液 使用说明书

【产品名称】

高效TRIZOL裂解液

货号: HC0868

规格: 100ML

保存条件: RT保存12个月

需要试剂:

氯仿、异丙醇、75%乙醇(用DEPC水配制)、RNase free 水、组织匀浆。

操作步骤:

1、样本处理

- (1)取出高温高压消毒后研钵, 切取 50-100mg冰冻组织置于研钵内, 倒入液氮, 研碎;
- (2)每50-100mg均浆组织标本中加入1ml的高效TRIZOL裂解液, 标本的量不能超过高效TRIZOL裂解液 体积的 10%, 否则会出现 DNA 污染;
- (3)将以上匀浆标本转移到1.5ml的EP管中, 在15-30°C放置5min, 以彻底分离核蛋白复合体;

2、相分离

加入0.2 ml的氯仿, 加盖好后用手剧烈摇晃15s, 在15-30°C放置2-3min, 然后离心 12,000xg, 15min;离心后分成三层, 取上层水相。RNA只存在于水相中, 水相占总体积 的 60%。

3、RNA 沉淀

将上层水相转移到另一干净的 EP管中, 加入0.5ml异丙醇, 15-30°C, 静置10min, 然后 12,000xg, 4°C离心10min。离心前可以在管的侧壁和底部看到絮状胶样沉淀, 这就是 RNA 沉淀。

4、RNA 洗涤

去上清, 加入1ml 75%乙醇洗涤RNA沉淀, 振荡器混匀, 7,500xg, 4°C离心5min。

5、RNA 再溶解

去上清, 置真空或空气中 5-10min, 干燥 RNA沉淀。注意不能将 RNA沉淀完全干燥, 这样会极大地降低它的溶解度。部份溶解的RNA样品其 A260/280 比值<1。用无 RNase 水或 0.5% SDS 溶液重悬 RNA沉淀, 用枪头反复吹打几次, 55-60°C, 静置10min。测浓度后-20°C保存。

6、测浓度

取2μl储存液加入另一个EP管中, 再加入98μl无RNase水, 离心混匀, 以无RNase水作空白对照, 测OD260/280值。OD260/280 值在1.8-2.0视为纯度很高。

- 一般浓度在1000ng/μl较准。浓度太高要稀释以后再测定。
- RNA鉴定: 琼脂糖电泳, 确定抽提RNA完整性和DNA污染情况。

【注意事项】

在使用高效TRIZOL裂解液的时候要带手套和眼罩，避免接触到皮肤和衣服，使用化学通风橱，防止蒸汽吸入。

除非特别说明，所有的操作均在 15-30°C下进行，所用的试剂均放置于15-30°C。

组织在加入氯仿之前是可以在-60至-70°C放置一个月。RNA沉淀在75%乙醇中在2至8°C下至少可以放置一周，在-5至-20°C至少可以放置一年。

