



TRIGene Reagent

总 RNA 提取试剂

版本号: V250201

货号: P118

保存: 4°C

运输: 低温

货号	规格
P118-05	100 ml

【产品概述】

TRIGene 是基于 TriZol 原理制备的一种通用总 RNA 提取试剂。该方法简便、快捷, 适用于动植物细胞、组织、酵母细胞以及细菌的总 RNA 抽提。其原理是利用异硫氰酸胍/酚/氯仿法, 快速裂解细胞, 溶解细胞内含物, 抑制核酸酶活性, 从而有效防止 RNA 在提取过程中的降解。加入氯仿后, 溶液分为水相和有机相。RNA 保留在上层水相中, 分离后可用异丙醇沉淀回收。TRIGene 提取的总 RNA 产量大、纯度高, 无基因组 DNA 和蛋白质污染, 可直接用于 RT-PCR、Northern blot、dot blot、polyA 筛选、体外翻译、RNase 保护实验和分子克隆等一系列操作。

【产品组分】

组分货号	组分名称	P118-05
ZP118-101	TRIGene	100 ml

【保存条件】

4°C 避光密闭保存, 保质期 12 个月。

【注意事项】

- TRIGene 试剂中含有苯酚等有害物质, 应在通风橱内操作并使用个人防护用品如实验服、手套、防护眼镜或面具等, 防止皮肤接触和吸入。
- 预防 RNase 污染:
 - 采用无菌操作规程; 经常更换新手套, 防止样品由于皮肤携带的细菌、真菌而导致的 RNase 污染。
 - 使用经 Nuclease-free Water (DEPC-treated) 处理过的塑料容器和枪头, 避免交叉污染。
 - RNA 在 TRIGene 中不会被 RNase 降解。但后续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4 h, 塑料器皿可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 min, 然后用水彻底清洗后灭菌烘干使用。
 - 配制溶液应使用无 RNase 的水 (制备方法: 在去离子水中加入终浓度为 0.05% (v/v) 的 DEPC, 充分混合, 室温或 37°C 放置过夜, 高温高压灭菌)。
 - 实验前需准备的试剂: RNA 实验专用的氯仿、异丙醇、75%乙醇、Nuclease-free Water (DEPC-treated) 或 TE 缓冲液。
 - 匀浆后加氯仿前, 样品可在 -80°C 放置一个月以上; 溶解在 75%乙醇中的 RNA 可在 4°C 保存一周或 -20°C 保存一年。

【操作流程】

1. 细胞裂解

组织样本:

TRIGene 用量: 每 50-100 mg 组织加 1 ml TRIGene, 样品体积不应超过 TRIGene 体积的 10%。

- 将动物或植物组织切成小块, 在液氮中磨碎或用匀浆器匀浆处理。
- 将研磨好的组织粉末快速转入装有 1 ml TRIGene 的 2 ml 离心管中, 在涡旋振荡器上迅速振荡混匀, 置于冰上, 待所有的样品研磨完。
- 裂解产物应呈澄清的透明粘稠液体。对于富含蛋白、脂肪或多糖物质的组织样品如肌肉、脂肪组织和植物结节部位等, 匀浆后仍会存留有不溶物质, 可于 4°C 12,000 x g 离心 10 min, 然后吸取上清至一新的离心管中



细胞样本:

- 1) **贴壁细胞:** 吸尽培养液, 每 10 cm² 培养面积 (6 孔板单孔或 35 mm 平皿) 加入 1 ml TRIgene, 用加样器吹打数次, 以确保细胞完全裂解, 然后转移至离心管中。
注: TRIgene 的使用量应由培养皿表面积决定, 而非由细胞数目决定。TRIgene 量不足可能导致提取的 RNA 中有 DNA 污染。
- 2) **悬浮细胞:** 离心收集细胞, 吸尽液体, 每 5-10×10⁶ 动植物或酵母细胞, 或每 1×10⁷ 细菌细胞加入 1 ml TRIgene, 用加样器吹打, 使其完全裂解, 然后转移至离心管中。
注: 添加 TRIgene 前切勿洗涤细胞, 以免 RNA 降解。必要时可以用匀浆器来裂解某些细菌或者酵母细胞。

2. 液相分离

- 1) 裂解产物于室温放置 5 min, 使核酸-蛋白复合物完全分离。(注: 此时样品可在-80°C长期保存。)
- 2) 每 1 ml TRIgene 加入 0.2 ml 氯仿, 盖紧管盖, 剧烈振荡 15 s, 室温放置 2-3 min。
- 3) 4°C 12,000 x g 离心 15 min, 样品会分成三层: 桔黄色的下层有机相, 中间层和无色的上层水相。
- 4) 吸取含总 RNA 的上层水相至一新的离心管中, 吸取水相的体积为所用 TRIgene 试剂的 60%。

3. RNA 回收

- 1) 按照每 1 ml TRIgene 的最初使用量加入 0.5 ml 异丙醇, 颠倒数次混匀, 室温放置 10 min。
- 2) 4°C 12,000 x g 离心 10 min, 弃除上清, 可见胶状的 RNA 沉淀。
- 3) 按照每 1 ml TRIgene 的最初使用量加入 1 ml 75%乙醇, 颠倒数次混匀, 洗涤沉淀。
- 4) 4°C 12,000 x g 离心 5 min, 弃除上清。
- 5) 室温倒置 5-10 min 晾干或真空抽干 (不要使用真空干燥离心机, 以免 RNA 过干, 难以溶解)。
- 6) 加入适量 (如 25 μl) Nuclease-free Water (DEPC-treated) 或 TE 缓冲液, 用加样器吹打数次溶解 RNA。
- 7) 通过 RNA 电泳以及紫外分光光度计检测, 确定 RNA 的浓度、纯度和完整性。
- 8) 所得的 RNA 应立即使用或适量分装后-80°C保存, 避免反复冻融。

【RNA 提取常见问题及解决方案】

问题	可能原因	解决方案
产量低	样品裂解或匀浆处理不彻底	加入 TRIgene 后彻底匀浆, 植物和酵母在液氮中充分研磨
	RNA 终产物溶解不完全	注意避免 RNA 过分干燥; 难溶的沉淀可于 50-60°C 加热 5 min
RNA 降解	组织或细胞样品不新鲜	采用新鲜材料; 及时将提取 RNA 的样品应于-80°C或液氮冷冻保存
	提取的 RNA 长期保存置于-20°C	应置于-80°C长期保存
	细胞在胰酶处理时被破坏	避免使用胰蛋白酶, 直接使用 TRIgene 裂解细胞
	溶液或离心管未经 RNase 去除处理	氯仿抽提之后的所有步骤都需采用无 RNase 的试剂和容器
	电泳时使用的甲酰胺 pH 值低于 3.5	正确配制 RNA 变性凝胶
OD260/280 <1.65	检测吸光度时, RNA 样品溶于水中	使用 TE 稀释 RNA 样品进行检测
	样品匀浆时的 TRIgene 用量过少	通常向每 50 mg 组织、每 10 cm ² 培养面积、或每 5-10×10 ⁶ 细胞中加入 1 ml TRIgene
	匀浆后样品未在室温放置 5 min	匀浆后室温放置 5 min
	苯酚污染 (270 nm 强吸收峰)	4°C 下离心; 小心吸取上层水相, 避免混有有机相; 对污染的样品使用乙醇沉淀去除苯酚
	最后得到的 RNA 沉淀未完全溶解	避免使用真空干燥离心机干燥 RNA 沉淀; 对难溶的沉淀可于 50-60°C 加热 5 min 助溶
OD260/280 >2.0	RNA 降解使 OD260 值升高	尽可能采取一切避免 RNA 降解的措施
DNA 污染	样品匀浆时的 TRIgene 用量过少	通常向每 50 mg 组织、每 10 cm ² 培养面积、或每 5-10×10 ⁶ 细胞中加入 1 ml TRIgene
	起始样品中含有溶剂、强缓冲液或碱性溶液	使用 DNase I 处理 RNA 溶液

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。