



GenZol (Trizol) RNA 提取试剂

● 产品说明

本品可以从动物组织、植物材料、各种微生物、培养细胞等中提取 Total RNA。样品在 GenZol 中能够充分被裂解，在加入氯仿离心后，溶液会形成上清层、中间层和有机层（鲜红色下层，含有蛋白质、多糖、脂肪酸、细胞碎片和少量 DNA），RNA 分布在上清层中，收集上清层，注意不要收集中间层，经异丙醇沉淀便可以回收得到 Total RNA。使用 GenZol，Total RNA 的提取过程可在 1 小时内完成。提取的 Total RNA 纯度高，很少含蛋白质及基因组 DNA，可以直接用于 Northern 杂交、mRNA 纯化、体外翻译、RT-PCR*等各种分子生物学实验。

*：如果用于 RT-PCR 实验，即使有少量的基因组 DNA 也会影响实验结果，因此，实验前应使用 Recombinant DNase I (RNase-free) 进行处理。

● 产品内容

GenZol*	100 ml
GenZol*	200 ml

* GenZol 中含有强变性剂，应避免与皮肤、衣物等接触。若不小心接触到眼睛或皮肤时，请立即到医院进行处理。

【试剂盒之外所需准备试剂】

- ◆ 氯仿
- ◆ 异丙醇
- ◆ 75%乙醇（RNase-free 水配制）
- ◆ RNase-free 水

● 保 存

4℃。

避光保存以保持活性。

● RNA 提取实验前的准备

- 1、尽量使用一次性塑料器皿。使用高温高压灭菌后的离心管或用于微量移液器的枪头。若使用玻璃器皿等，应进行 160℃干热灭菌 2 小时。
不能进行干热灭菌的器皿，需用 0.1% DEPC（焦碳酸二乙酯）水溶液在 37℃下处理 12 小时，然后在高温高压灭菌以除去残留的 DEPC。
RNA 实验用的器具建议专门使用，不要用于其它实验。
- 2、使用的无菌水须用 0.1%的 DEPC 处理后再进行高温高压灭菌。如果使用的试剂不能高温高压灭菌，请使用高压灭菌后的仪器盛装，无菌过滤后使用。

3、请使用一次性塑料手套和口罩进行所有试剂配制和实验操作，以避免 RNase 污染。

● 实验操作

1. GenZol 的使用量情况如下：

样品量	GenZol 使用量 (ml)
10 cm ² 的贴壁培养细胞	1-2
5×10 ⁶ -1×10 ⁷ 的非贴壁培养细胞	1
100 μl 的白细胞	2
50~100 mg 的组织样品 (易提取 RNA)	1
50~100 mg 的组织样品 (不易提取 RNA, 如肝、脾、骨及软骨*1 等)	2
15~30 mg 的植物材料*2 (多糖和多酚含量不高的)	1
2~5×10 ⁷ 的酵母细胞*3	1

*1: 从骨及软骨提取的 RNA 时, 可选择 High-Salt Solution for Precipitation (Plant) 和 GenZol 配套使用

*2: 从含有大量多糖的植物样本提取时, 可选择 Fruit-mate™ for RNA Purification 和 GenZol 配套使用

*3: 从酵母中提取 RNA 时, 可选择 Yeast Processing Reagent (for total RNA preparation)) 和 GenZol 配套使用

2、实验样品的研磨和匀浆。

A. 贴壁培养细胞

- ① 倒出培养液, 用 1×PBS 清洗一次。
- ② 每 10 cm² 生长的培养细胞中加入 1-2 ml 的 GenZol, 轻微晃动, 确保使裂解液均匀分布于细胞表面。
NOTE: 对于贴壁牢固的培养细胞可用细胞刮勺剥离细胞。
- ③ 将内含细胞的裂解液转移至离心管中, 用移液枪反复吹吸直至裂解液中无明显沉淀。
- ④ 室温 (15-30℃) 静置 5 分钟, 然后从核蛋白中分离 RNA。

B. 悬浮培养细胞

- ① 将悬浮培养细胞连同培养液一起倒入离心管中, 8,000×g 4℃ 离心 2 分钟, 弃上清, 注意不要破坏细胞沉淀。
- ② 向每 5×10⁶ 个细胞中加入 1 ml 的 GenZol。
- ③ 用移液枪反复吹吸直至裂解液中无明显沉淀。
- ④ 室温 (15-30℃) 静置 5 分钟, 然后从核蛋白中分离 RNA。

C. 动物组织、植物材料样品

- ① 将超低温冻结的 RNA 提取样品称量后迅速转移至用液氮预冷的研钵中, 用研杵研磨组织, 其间不断加入液氮, 直至研磨成粉末状 (如果没有研磨彻底会影响 RNA 的收率和质量)。可以向研钵中加入与样品匀浆量匹配的适量的 GenZol。对于新鲜的组织样品, 立即加入 GenZol, 充分匀浆。
- ② 将匀浆液转移至离心管中, 室温 (15-30℃) 静置 5 分钟。
- ③ 12,000×g 4℃ 离心 5 分钟。
- ④ 小心吸取上清液, 移入新的离心管中 (切勿吸取沉淀)。

3. Total RNA 的提取。

- ① 向上述步骤 2 的匀浆裂解液中加入氯仿 (GenZol 的 1/5 体积量), 盖紧离心管盖, 混合至溶液乳化呈乳白色。
- ② 室温静置 5 分钟。
- ③ 12,000×g 4℃ 离心 15 分钟。从离心机中小心取出离心管, 此时匀浆液分为三层, 即: 无色的上

清液（含 RNA）、中间白色蛋白层（大部分为 DNA）及带有颜色的下层有机相。

- ④ 吸取上清液转移至另一新的离心管中（切勿吸出白色中间层）。
- ⑤ 向上清中加入 0.5-1 倍 GenZol 体积的异丙醇，上下颠倒离心管充分混匀后，室温下静置 10 分钟。
- ⑥ $12,000 \times g$ 4°C 离心 10 分钟。一般在离心后，试管底部会出现 RNA 沉淀。

4. RNA 沉淀的清洗。

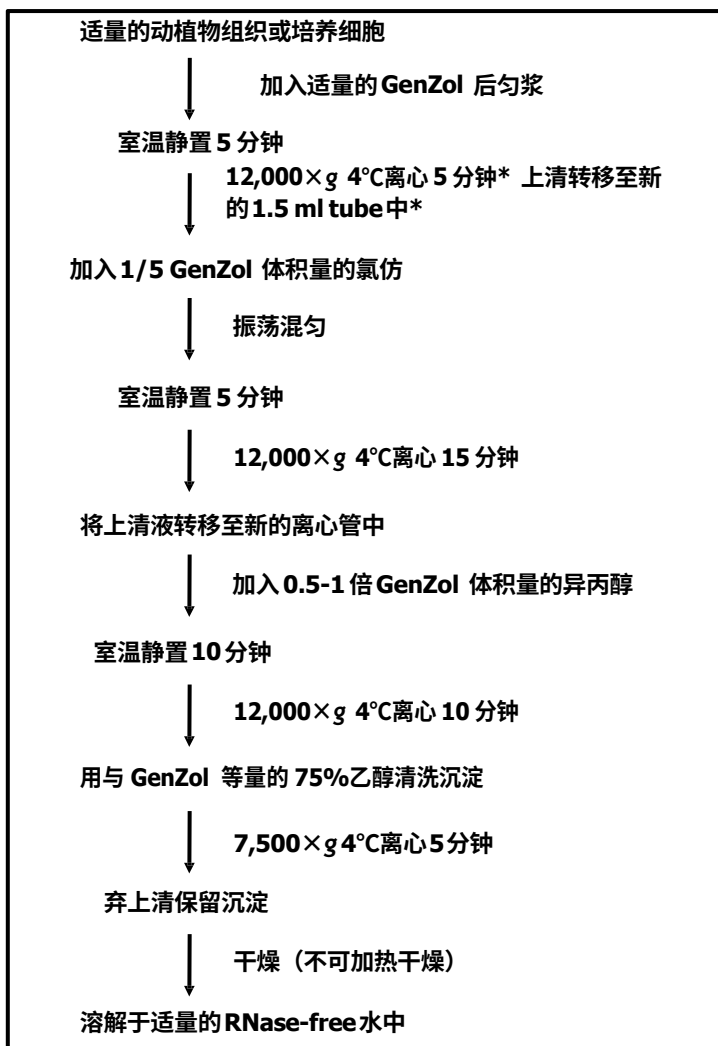
小心弃去上清，切勿触及沉淀，残留少量异丙醇没有关系。加入与 GenZol 等量的 75% 乙醇，轻轻上下颠倒洗涤离心管管壁， $7,500 \times g$ 4°C 离心 5 分钟后小心弃去上清，切勿触及沉淀。

5. RNA 的溶解。

打开离心管盖，室温干燥沉淀几分钟。沉淀干燥后，加入适量的 RNase-free 水溶解沉淀。

NOTE: 不可以离心或加热干燥，否则 RNA 将会很难溶解。

● RNA 提取操作流程简图



*: 组织样品必需步骤

● RNA 纯度分析

1. 用琼脂糖凝胶电泳（1%琼脂糖+溴乙锭）分析

电泳用于分析按以上方法提取获得的 1-2 μg 热变性 total RNA。对于没有降解的 RNA 可能是 2 种核糖体 RNA（真核细胞：28S 和 18S），条带亮度约为 2:1。但如果核糖体 RNA 条带弥散，说明可能 RNA 已降解。此外，如果条带大小超过 28S，可能存在基因组 DNA 污染，建议使用 DNase I 处理。

2. 吸光度分析

用 TE Buffer 稀释 RNA 后测定吸光度，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值在 1.7-2.1 为好。

例：

RNA 浓度计算方法：

$$\text{RNA 浓度} (\mu\text{g}/\mu\text{l}) = (\text{OD}_{260} - \text{OD}_{320}) \times \text{稀释倍数} \times 0.04$$

● Troubleshooting

1. 一般情况下的组织或细胞中所能提取的 RNA 量如下表：

组织材料	起始样品量	Total RNA 提取量
全血*	1 ml	15~20 μg
白细胞	1×10^7 个	约 20~40 μg
小鼠肝脏	1 g	约 4,000~5,000 μg
HL-60 培养细胞	1×10^7 个	约 100 μg
烟草叶片	1 g	约 1,000 μg
小鼠肾脏	1 g	约 3,000 μg
小鼠骨骼肌	1 g	约 1,500 μg
小鼠脑	1 g	约 1,500 μg
鲤鱼骨骼肌	1 g	约 50 μg

*: 100 μl 全血使用 1 ml GenZol

如果收量少于预期，可能由于以下原因：

- 1、加入 GenZol 后研磨不充分
- 2、三相分层时，上清液取量过少
- 3、RNA 沉淀没有完全溶解
- 4、在异丙醇沉淀或清洗步骤存在 RNase 污染

2. OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值 < 1.65，为什么？

- ① RNA 应使用 TE Buffer 稀释后再进行吸光度值的测定，低离子强度或低 pH 值会使 OD₂₈₀ 值升高。
- ② 样品裂解时加入的 GenZol 量偏少，造成蛋白分离不充分，可以再次对 RNA 溶液进行处理，以除去蛋白。
- ③ 含有裂解液的样品经匀浆混匀后未在室温静置，或静置的时间不足 5 分钟。这一步是从核酸中分离核蛋白的重要步骤。
- ④ 相分离后，吸取上清液时不小心接触蛋白层造成污染。
- ⑤ RNA 未充分溶解。

3. 提取的 RNA 不溶怎么办？

- ① 若 75%乙醇清洗沉淀后干燥时间过长，则 RNA 沉淀会难以溶解。避免加热或离心干燥沉淀。
- ② 可以于 60°C 加热 5 分钟后再于冰上溶解数小时可有助于沉淀溶解。

4. 提取的 RNA 降解，为什么？

- ① 使用的组织材料不够新鲜。提取 RNA 的组织材料应采用新鲜的组织材料，或将新鲜的组织材料用液氮迅速冷冻后置于-80℃保存。
- ② 提取 RNA 时使用的试剂及器材中混有 RNA 分解酶。
- ③ 提取的组织材料中含有大量的 RNA 分解酶，而 GenZol 的添加量不够。

5. 提取的 RNA 中含有 DNA 污染，为什么？

- ① 裂解组织或细胞使用的 RNAiso Plus 量偏少。请按用量表添加或多于用量表添加。
- ② 使用的组织材料中含有大量的有机溶剂（如：乙醇、异丙醇等）、高浓度的 Buffer、碱性溶剂等。
- ③ 如果提取的 RNA 中含有 DNA 时，可以使用 Recombinant DNase I (RNase-free) 进行 DNA 消化。

6. 提取的 RNA 中含有多糖怎么办？

大多数的植物及动物肌肉组织中都含有大量多糖，因此很难将其从 RNA 中除去，使用此类组织材料提取 RNA 时，建议增加 RNAiso Plus 的使用量。

对于从含有大量多糖的植物样本中提取 RNA 时，推荐使用 Fruit-mate for RNA Purification 作为预处理试剂。在异丙醇沉淀纯化步骤中加入 High-Salt Solution for Precipitation (Plant) 可有效除去 RNA 溶液中的多糖。

● **注意事项**

仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能作为食品、化妆品或家庭用品等。

官方网址：<http://www.genesion.com.cn>

订货热线：4006169114、020-84224925

Email:whiga22@126.com

