



产品描述

ExTrizol Reagent 是广谱型总 RNA 提取试剂。实验操作方便快捷，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。该产品对少量的组织(50-100mg)和细胞(5×10^6)以及大量的组织($\geq 1g$)和细胞($> 10^7$)均有很好的分离效果。样品在 ExTrizol 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。ExTrizol 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 A_{260}/A_{280} 比值 ≥ 1.8 。注意：如果是普通琼脂糖凝胶电泳，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。

产品应用

用于简单、快速、高效的总 RNA 提取。

产品组成

组份	PR910-01	PR910-02
ExTrizol Reagent	50 ml	100 ml

产品储存

4°C 保存。保质期 1 年。

注意事项

1. 样品用 ExTrizol 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， $2-8^{\circ}\text{C}$ 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 (货号：PR913) 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。
4. 用 ExTrizol Reagent 抽提 RNA 时要戴手套和护眼罩。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，所有的操作应在 $15\sim 30^{\circ}\text{C}$ 的室温条件下。

操作步骤(实验前请先阅读注意事项)

1. 匀浆

1.1. 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 ExTrizol 中迅速研磨，每 50-100mg 组织加入 1ml ExTrizol，混匀。

【注意：样品体积一般不要超过 ExTrizol 体积的 10%】

1.2. 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 ExTrizol，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入 1ml ExTrizol，混匀。

【注意：样品体积一般不要超过 ExTrizol 体积的 10%】

1.3. 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 ExTrizol 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 ExTrizol 量（每 10cm² 加 1ml）。当 ExTrizol 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】。

1.4. 细胞悬液：离心收集细胞。在 ExTrizol 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 ExTrizol。在加入 ExTrizol 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。

1.5. 血液：推荐使用本公司的 ExTrizol LS Reagent (货号: PR911)，这是全血或者液体样品专用的 ExTrizol 试剂，LS 就是 Liquid Sample 液体样品的首字母简写。

2. 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。

3. 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。

【注意：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】

4. 每 1ml ExTrizol 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。

5. 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 存在于水样层中。水样层的容量大约为所加 ExTrizol 容量的 50-60%。（有机层和中间层是蛋白和 DNA，如需要提取，请联系我们索取提取方法）。

6. 将水样层转移到干净的离心管中，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。

7. 在室温或者 4°C 12,000 rpm 离心 10 分钟，弃上清。

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

9. 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】

10. 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】