



(DP424) TRNzol Universal

总RNA提取试剂操作指南

——动物组织

天根生化科技（北京）有限公司

版本号：20170328

WWW.TIANGEN.COM

实验准备

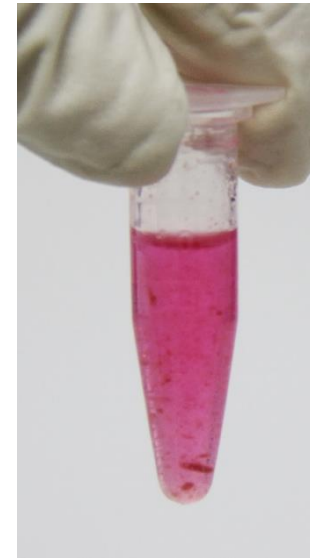
1. 动物组织 研钵 液氮 或 电动组织研磨器
2. 氯仿、异丙醇、RNase-Free ddH₂O、75%乙醇（使用RNase-Free ddH₂O配制）
3. 移液器及配套RNase-Free无菌枪头（200 μl，1ml） 1.5 ml 离心管（RNase-free）
4. 涡旋振荡器 台式低温离心机



Step 1



将组织中加入少于150 μ l 的TRNzol Universal用研磨器匀浆成无明显团块，或在研钵中用液氮充分研磨。



每50–100 mg组织补加TRNzol Universal至1 ml 并迅速混匀

**注意：样品体积不应超过
TRNzol Universal(1ml)体积的十分之一。**

Step 2



将匀浆样品在15–30°C放置5 min，使得核酸蛋白复合物完全分离。
样品颜色会变的稍微灰暗

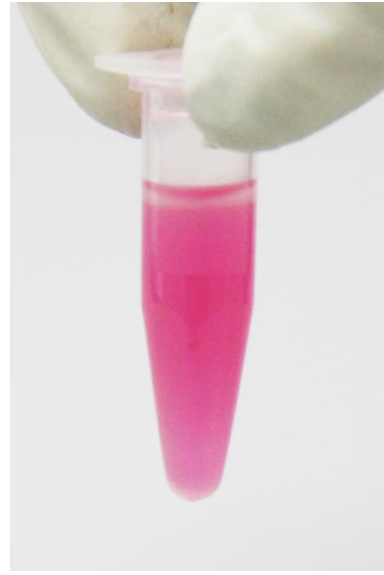
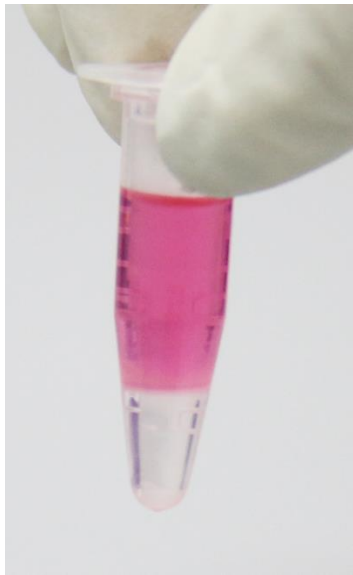
Step 3(可选步骤)



4°C 12,000 rpm (~13,400 × g) 离心5 min, 取上清, 转入一个新的无 RNase的离心管中。

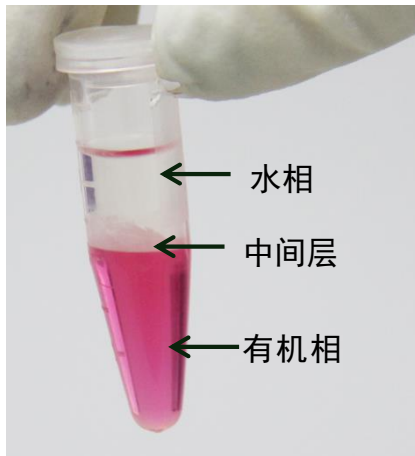
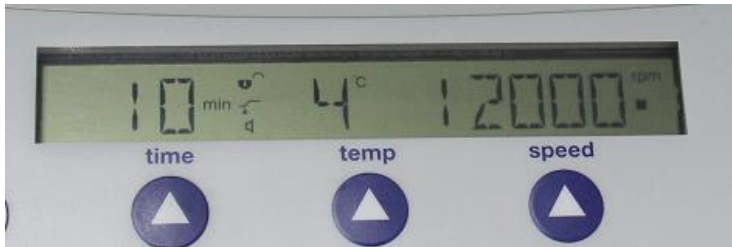
注意: 如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖或植物结节部分等, 可加此步骤离心去除。离心得到的沉淀中包括细胞外膜、多糖、高分子量DNA, RNA存在于上清溶液中。

Step 4

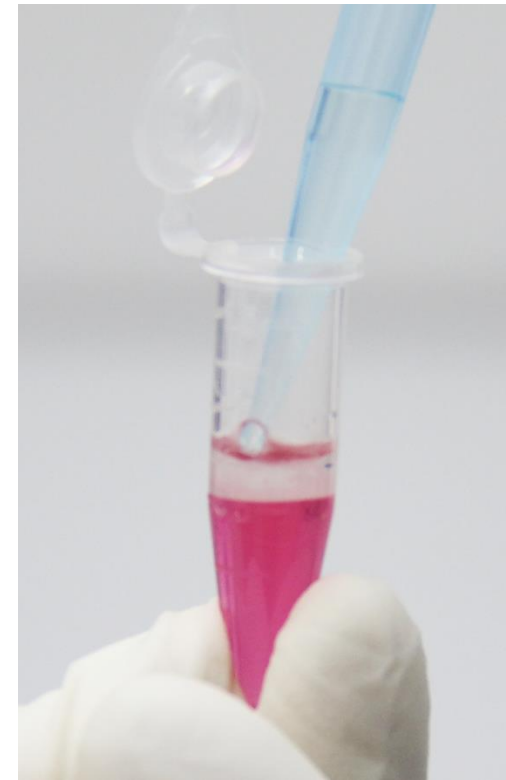


加入200 μ l氯仿，盖好管盖，剧烈振荡15 sec，室温放置3 min。

Step 5



4°C 12,000 rpm (~13,400 × g) 离心 10 min,



把水相转移到新管中，进行下一步操作。

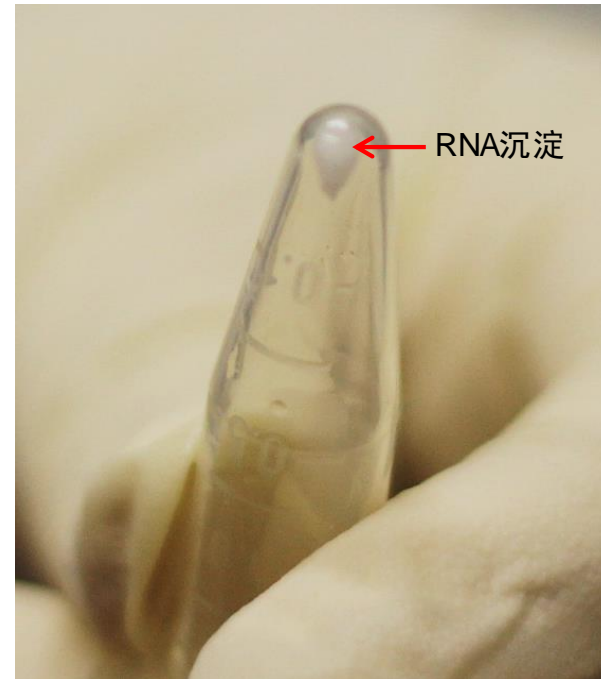
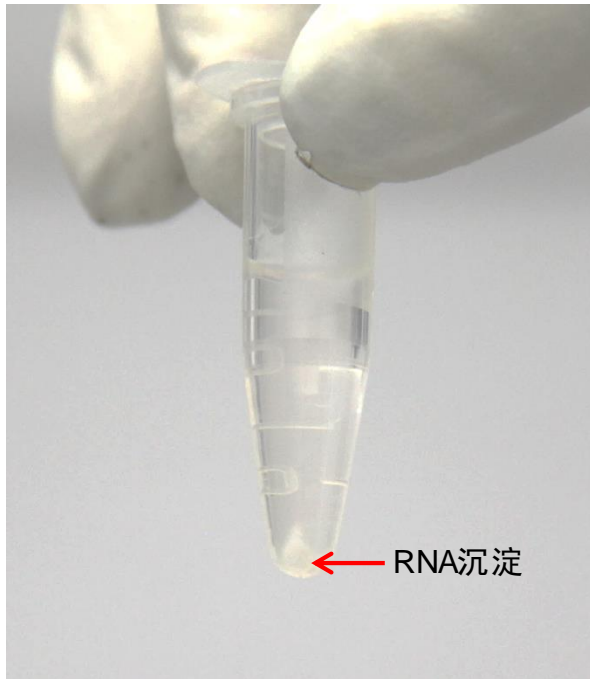
水相的体积约为所用TRNzol Universal的50%

Step 6



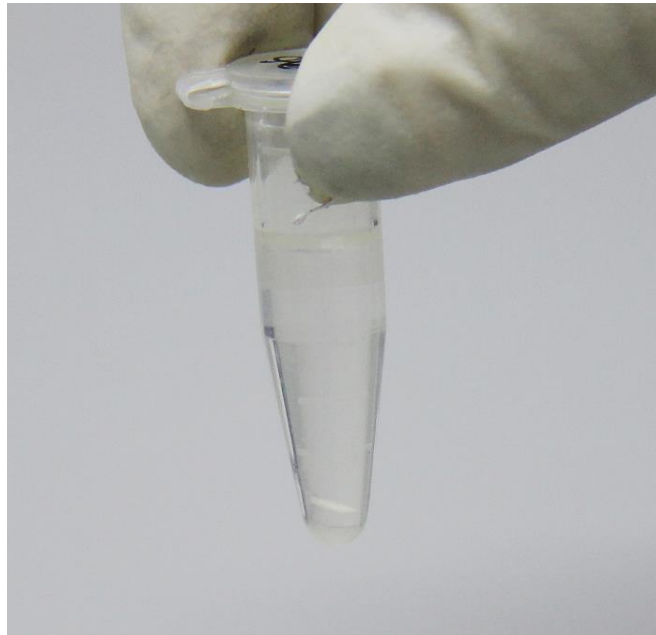
在得到的水相溶液中加入等体积异丙醇，混匀，室温放置10 min。

Step 7



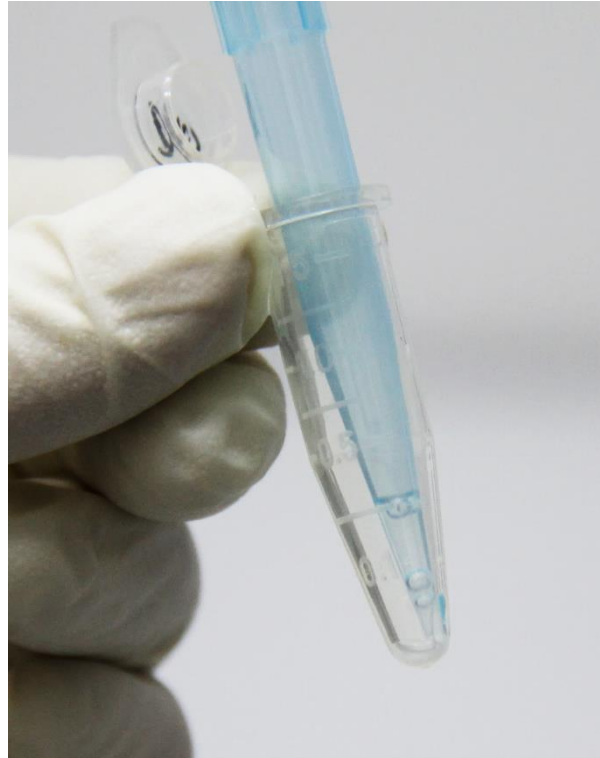
4°C 12,000 rpm (~13,400 × g) 离心 10 min, 去上清。离心前 RNA 沉淀经常是看不见的, 离心后在管侧和管底形成胶状沉淀。

Step 8



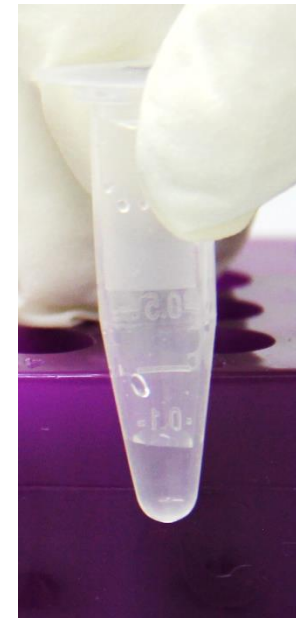
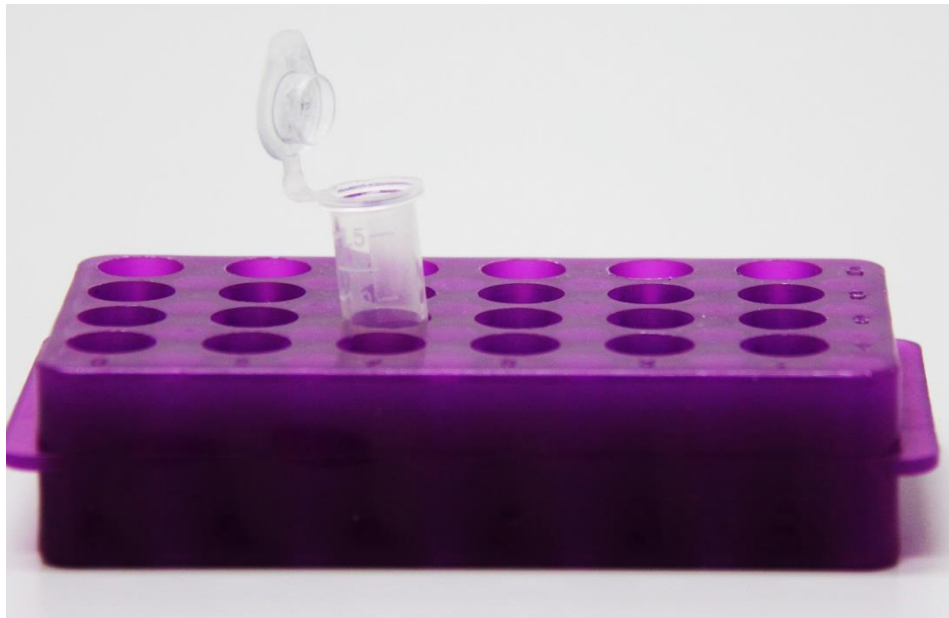
加入1 ml 75%乙醇（用RNase-free ddH₂O配制）洗涤沉淀。每使用1 ml TRNzol Universal至少用1 ml 75%乙醇对沉淀进行洗涤。

Step 9



4°C 10,000 rpm($\sim 9,391 \times g$)离心5 min。倒出液体，注意不要倒出沉淀，剩余的少量液体短暂离心，然后用枪头吸出，注意不要吸弃沉淀。

Step 10



室温放置晾干（不要晾的过干，RNA完全干燥后会很难溶解，大约晾干2—3 min左右即可），根据实验需要，加入30-100 μ l RNase-Free ddH₂O，反复吹打、混匀，充分溶解RNA。