



(DP421) TRNzol-A+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：20170327

[WWW.TIANGEN.COM](http://WWW.TIANGEN.COM)

## 实验准备

1. 动物组织， 研磨器或液氮， 研钵
2. 氯仿、异丙醇、RNase-free ddH<sub>2</sub>O、75%乙醇（用RNase-free ddH<sub>2</sub>O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  $\mu$ l 的TRNzol A+  
用研磨器匀浆成无明显团块，或在研  
钵中用液氮充分研磨。



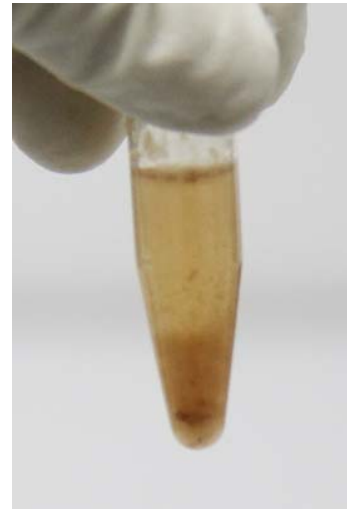
每50–100 mg组织补加  
TRNzol A+至1 ml 并迅速混匀

**注意：样品体积不应超过TRNzol  
A+ (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-free 1.5 ml 的离心管中。

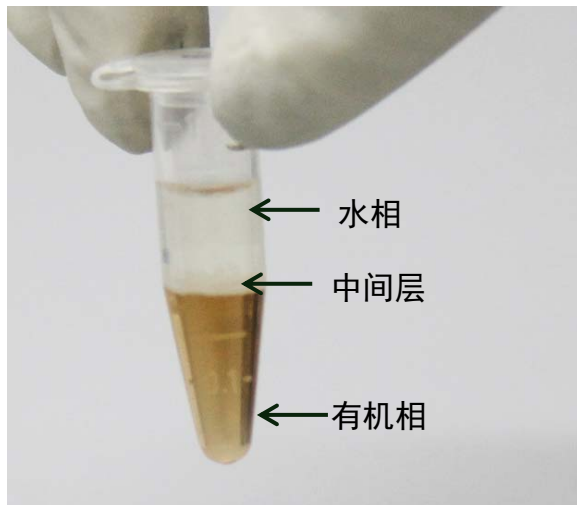
注意: 如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖或肌肉部分等, 可加此步骤离心去除。离心得到的沉淀中包括细胞外膜、多糖、高分子量DNA, RNA存在于上清溶液中。

## Step 4



加入200  $\mu$ 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 A+试剂的50%

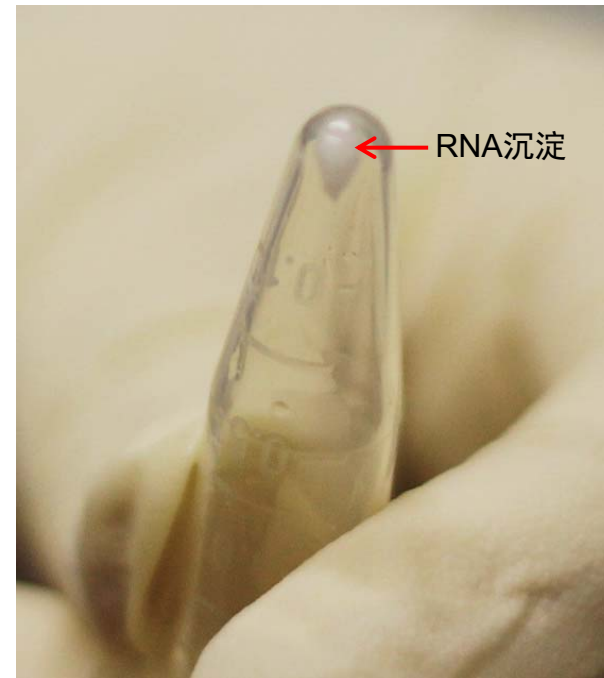
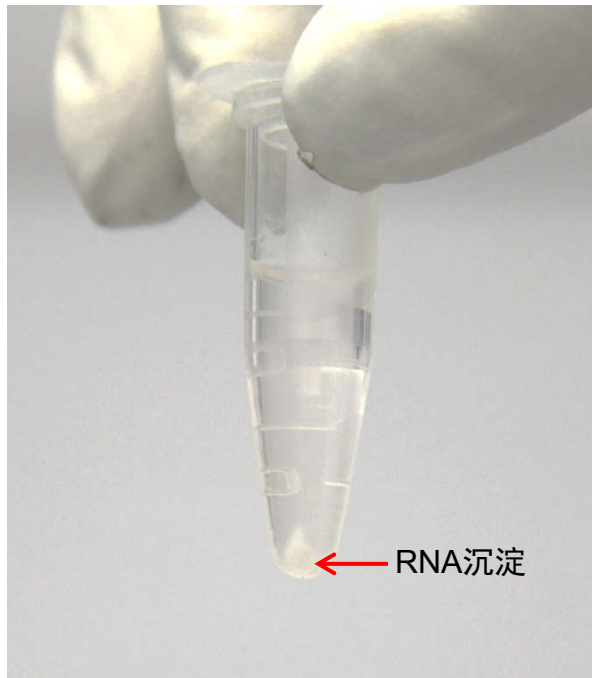
## Step 6



在得到的水相溶液中加入等体积异丙醇，混匀，室温放置20-30 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



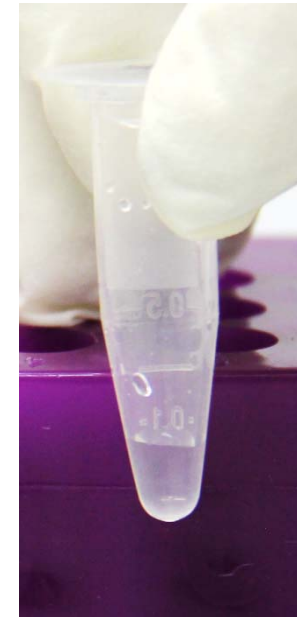
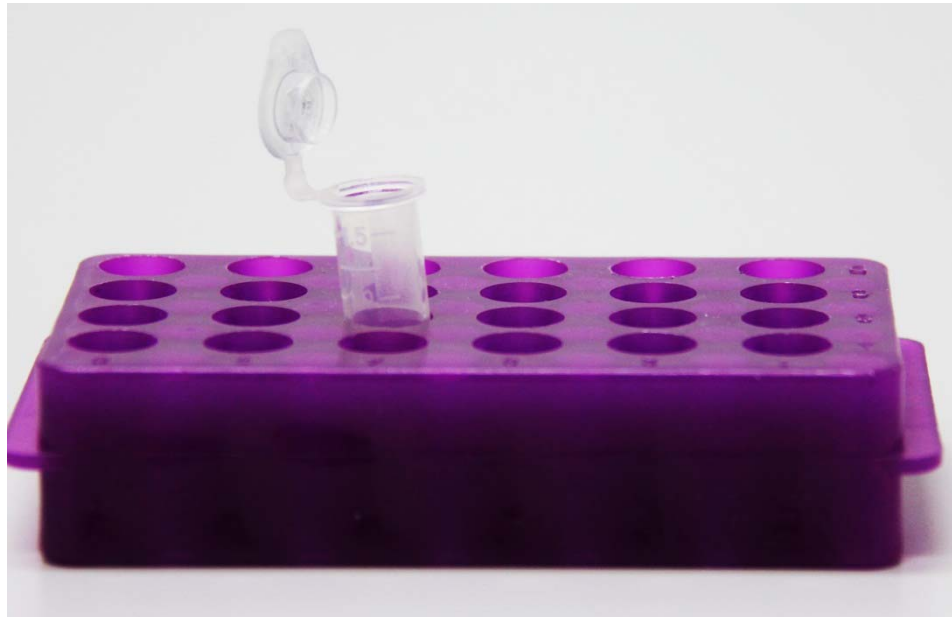
加入1 ml 75%乙醇（用RNase-free ddH<sub>2</sub>O配制）洗涤沉淀。每使用1 ml TRNzol-A+至少用1 ml 75%乙醇对沉淀进行洗涤。

## Step 9



4°C 5,000 rpm( $\sim 2,300 \times g$ )离心3 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  $\mu$ l RNase-free ddH<sub>2</sub>O，反复吹打、混匀，充分溶解RNA。