

产品简介

TIOSzol Reagent 是基于异硫氰酸胍/酚法的一种即用型的从细胞和组织等样本中提取总 RNA 的试剂。样品在 TIOSzol 中能够充分被裂解，样本裂解或匀浆过程中，TIOSzol 可保持 RNA 完整性，同时裂解细胞，溶解细胞内含物。TIOSzol Reagent 具有很强的广谱性，可以适用于各种样品的总 RNA 提取，提取过程方便快捷，整个操作在 1 小时内便可以完成。该试剂可用于小量样品（50~100mg 组织、 1×10^6 细胞）也适用于大量样品（ ≥ 1 g 组织、 $>10^7$ 细胞），和人、动物、植物组织、细菌等不同样品，整个提取过程在 1 小时内即可完成。加入氯仿后，溶液分为水相、中间层和有机相，RNA 在水相中。取出水相，用异丙醇可沉淀回收 RNA；中间层用乙醇沉淀可回收 DNA；有机相用异丙醇沉淀可回收蛋白。分离的总 RNA 蛋白质和 DNA 污染极低，可用于 Northern Blot、反转录、polyA 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和基因克隆。

产品特点

- 经典总 RNA 分离纯化方法，适于分离不同数量级样本的总 RNA；
- 适用于动物细胞、组织、植物组织等。

储存

2~8℃避光保存，有效期 2 年。

自备试剂及仪器

·研钵、一次性手套及防护用品和纸巾，台式小量离心机（可配离心 1.5mL 和 2mL 离心管的转子）；液氮、氯仿，异丙醇，75%乙醇（DEPC 水配置），RNase Free 水。

注意事项

·TIOSzol 含有强变性剂，请勿直接与皮肤接触或吞咽，若接触到皮肤或眼睛请尽快到医院处理。实验时务必穿实验服，戴手套。

·血液、体液等液体样本的提取，请使用 TIOSzol-LS (Code: BT0022)。

·TIOSzol 可除去样本中大部分 DNA，但不能完全去除。RT-PCR 反应上、下游引物位于同一外显子时，应选用 DNase I 处理后的 RNA，或者或者使用 Polestar 1st cDNA Synthesis Kit (gDNA removal) 合成 cDNA (TR0101)。

操作步骤

1. 不同来源样品的处理：

·人或动物组织：在研钵中用液氮将 300~500mg 组织研磨至粉末状，用液氮预冷过的 1.5mL 离心管称取 50~100mg 人或动物组织，迅速加入 1mL TIOSzol 试剂。用枪头反复吸打数次，并尽量避免产生泡沫。

·培养的动物细胞：每 10cm² 培养细胞中加入 1mL TIOSzol 试剂(比如直径为 3.5cm 的细胞培养皿，弃尽培养基后，直接加入 1mL TIOSzol)，勿弃吸头，直接用吸头吹打细胞数次，使细胞溶解，吸取裂解液转移至一个新 1.5mL 离心管中，进入步骤 3 的操作。

·悬浮培养的细胞：用一个新 1.5mL 离心管收集 $5 \sim 10 \times 10^6$ 细胞，加 100 μ L PBS 溶液漩涡振荡直至细胞全部悬浮，加入 1mL TIOSzol，勿弃吸头，用枪头反复吸打数次，使细胞溶解，进入步骤 3 的操作。

·植物组织/植物细胞/酵母/细菌：在研钵中用液氮将 300~500mg 样品研磨至粉末状，用液氮预冷过的 1.5mL 离心管称取 100mg 研磨至粉末状的组织，迅速加入 1mL TIOSzol 试剂，勿弃吸头，用枪头反复吸打样品数次，使其溶解，进入步骤 3 的操作。

2. 可选步骤：如果样品中含有较多蛋白质、脂肪、多糖或胞外物质，可于 13000rpm 离心 5min 取上清溶液进入步骤 3 操作。
3. 室温静置 5min，使核酸蛋白复合物完全分离。
4. 加入 200 μ L 氯仿，盖上管盖，手腕用力振荡 15sec，室温放置 2min。
5. 13000rpm 离心 10min，吸取上清液（约 600 μ L 左右）至新的 1.5mL EP 管中。
6. 向上述上清液中加入等体积的异丙醇，手腕用力上下颠倒数次，静置 5min，13000rpm 离心 10min，小心倒掉上清，留取底部总 RNA 沉淀。
7. 向沉淀中每管加入 1mL 75%乙醇洗涤，上下颠倒数次，13000rpm 离心 5min，小心倒掉上清，留取底部 RNA 沉淀。
8. 重复步骤 7 再洗涤 1 次。
9. 倒掉洗液，再次瞬时离心 10sec，用 10 μ L 吸头吸干残余的洗液，于室温中将乙醇挥发干净。
10. 每管加入 20~100 μ L TE Buffer 或 RNase Free H₂O 溶解总 RNA。