Trizol法是一种新型总RNA抽提试剂，内含异硫氰酸胍等物质，能迅速破碎细胞，抑制细胞释放出的核酸酶。

虽然Trizol里面含有RNA酶抑制剂的，1ml的Trizol一般最多只能裂解100mg的组织。但是如果组织过量，Trizol无法完全浸润组织无法完全裂解组织，多余组织内的RNA酶等物质会导致RNA的降解。这是RNA降解的很重要的原因。

同时，由于RNA容易降解，在实验过程中一般都要求口罩的，避免组织的污染。同时选用的无RNA酶的枪头、EP管以及DEPC水。

**实验提取步骤：**

标准Trizol提取步骤为液氮研磨--加入Trizol裂解--加入氯仿抽提--离心--加入氯丙醇沉淀--离心--酒精洗涤--离心。

1将细胞培养皿置于冰上，加入Trizol裂解5-10分钟，用枪头轻轻吹打后吸取液体放入EP管中。

2加入1/5体积的氯仿，上下混匀液体，4度静置10-15分钟。（氯仿为有机溶剂，有效的使有机相和无机相迅速分离。有机相中主要是酚和蛋白结合，从而使得蛋白和RNA脱离，RNA进入水相）。

3离心15分钟。离心后分成三层，RNA在上清里，从离心机轻轻拿出EP管，以免管内物质震荡导致下层沉淀激起。吸取上清的时候一定要动作轻柔，切忌吸取太多，一般吸到400-500ul，避免吸到下层沉淀，将液体置于新的EP管中。

4加入等体积异丙醇，4℃静置10min，然后离心10min。异丙醇主要用于沉淀RNA。

5取出EP管后可以见到侧壁沉淀，轻轻吸弃上清。

6向EP管中加入75%酒精洗涤沉淀，帮助分离剩余的有机试剂（剩余有机试剂过多会影响OD值和PCR反应），轻弹沉淀，使其浮在酒精，静置1-2min，让酒精充分接触沉淀，充分溶解有机试剂，然后离心5min。轻轻吸弃上清。

7将EP管再次放于离心机中瞬时离心，弃掉管壁残余液体。然后将EP管置于超净台中干燥5-10min.。注意RNA样品不要过于干燥，否则很难溶解。

8加入50ul DEPC处理水，震荡充分溶解沉淀。

9测量RNA浓度。将RNA保存于-80度。