

NewZOL LS 总 RNA 提取试剂使用说明书

【包装规格】

产品编号	产品名称	包装
EK-5303	NewZOL LS Reagent	100ml/500ml
	使用说明书	1 份

【保存条件】

2-8°C长期保存

【操作方法】

I. 样本处理

- 组织样本处理：**用匀浆器或其他类似设备匀化组织样本机械破坏装置，每 500 μ L 最多使用 50 mg 组织 NewZOL LS。对于 DNA 含量高的组织（例如脾脏），建议使用 25 mg 组织/ 500 μ L 试剂。
- 贴壁细胞样本处理：**除去细胞培养基，通过向培养皿（直径 3.5 cm，10 cm²）中加入至少 1 mL NewZOL LS 并通过反复吸移来确保完全裂解。（根据培养皿面积而不是细胞数计算试剂量。试剂量不足将导致分离的 RNA 受到 DNA 污染。残留的匀浆可以在-20 至-80°C 下保存至少一年，以备后用。）
- 悬浮细胞样本处理：**沉淀细胞，并通过添加 NewZOL LS 直接裂解。每 5 $\times$ 10⁶ 个细胞至少加入 500 μ L NewZOL LS，移液器吹打数次裂解细胞。（添加 NewZOL LS 之前请勿洗涤细胞，细胞洗涤可能会导致 RNA 降解。）
- 液体样本处理：**每 200 μ L 液体样品中加入 500 μ L NewZOL LS 进行均质化和裂解。对于小于 200 μ L 的样品体积，请添加 500 μ L NewZOL LS 并加水至最终体积为 700 μ L。
- 富含脂质样本处理：**如上所述均质化富含脂质的样品。将样品以 12,000 $\times$ g 离心 5 分钟。离心后，样品顶部会出现一层脂肪。用移液器吸头尖端刺穿上层，然后将上清液转移到新管中。

II. RNA 提取

- 每使用 500 μ L NewZOL LS 的裂解液中加入 200 μ L 无 RNase 的水至裂解液中。剧烈摇动样品 15 秒钟。在室温下孵育 5 分钟。（对于包含 50 mg 组织/ 500 μ L NewZOL LS 的样品，建议在室温下孵育 15 分钟。）
- 在室温下以 12,000 $\times$ g 离心样品 15 分钟。含有 DNA，蛋白质和多糖的半固体沉淀物形成在试管底部。RNA 仍溶解在上清液中。
- 将 500 μ L 上清液转移至新管中。勿吸太干净防止污染，在 DNA /蛋白质沉淀上方保留一小部分上清液。

(含有 DNA, 蛋白质和多糖的沉淀物占匀浆-水混合物总量的约 10%。)

4. 加入等体积异丙醇, 上下颠倒混匀以沉淀 RNA, 在室温下孵育样品 10 分钟。

5. 将样品以 12,000×g 离心 10 分钟, 除去并丢弃上清液。

通常, 在管的底部以白色沉淀的形式获得 RNA。对于脾脏样品, RNA 在试管底部形成凝胶状膜。用乙醇洗涤后, 膜变得更可见。

6. 加入 500μL 75% 乙醇(无 RNase 水配制)洗涤, 轻弹管底使沉淀悬浮, 上下颠倒混匀。对于较大的试管, 按比例添加 75% 乙醇溶液。

7. 将沉淀以 8,000×g 的速度离心 3 分钟。移液去除沉淀中的乙醇, 重复乙醇洗涤步骤一次。静置 5-10 分钟待乙醇挥发, 无需过份干燥成固体, 干燥成固体的 RNA 沉淀不易溶解

8. 将 RNA 沉淀溶于无 RNase 的水中, 在室温下涡旋 3 分钟, 以实现有效溶解。将得到的 RNA 进行检测或-65°C长期保存(若需更长时间保存请添加适量 RNA Chill (ES-8520))。

【注意事项】

1. RNA 酶污染注意事项:

- a. 提取过程用品均经过去 RNA 酶处理: 玻璃制品可以 150 °C 烘烤 4 小时, 塑料制品可浸泡于 0.5M NaOH 溶液后用清水冲洗并高压灭菌, 吸头及离心管类尽量使用一次性无酶吸头及离心管
- b. 佩戴手套及口罩及护目镜: 皮肤上常含有细菌和霉菌, 可污染 RNA 制备, 且同时是 RNA 酶来源, 同时 New ZOL LS 对皮肤有一定毒性, 建议佩戴手套及口罩及护目镜。
- c. 尽量于通风橱内提取: 避免吸入提取过程中有毒物质。

2. 安全性问题:

- a. 本品在与皮肤接触及吞咽有毒性, 可导致烧伤。与皮肤接触后, 应立即用洗涤剂和大量水冲洗。如感到身体不适, 应立即就医