

## 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 Total RNA Isolation Reagent	100mL/200mL
	使用说明书	1 份

### 【保存条件】

室温避光保存，有效期 12 个月。冷藏可延长时间并维持最佳活性。

### 【概述】

NewZOL LS 采用先进的单相提取技术，**无需氯仿相分离**。通过加入无酶水使 DNA、蛋白质和多糖形成半固体沉淀，而 RNA 留在上清中。该试剂能高效分离总 RNA（包含 mRNA、rRNA 及 microRNA）。

**高纯度：**分离出的 RNA 纯度高、无降解，无需 DNase 处理即可直接用于 RT-PCR。

**无需氯仿：**无需进行氯仿诱导的分层即可获得纯净 RNA。

**应用广泛：**适用于 RT-PCR、qRT-PCR、微阵列、poly A+ 筛选、Northern Blot 和 RNase 保护分析等。

### 【操作方法】

#### 1. 样本前处理 (请选择对应样本类型)

*关键：裂解是否完全决定了最终的纯度和产量。*

##### ① 贴壁细胞：

**比例：**每 10 cm<sup>2</sup> 面积（如直径为 3.5 cm 细胞培养皿）加 1 mL 试剂。

**操作：**弃培养基，加药后直接在皿里反复吹吸裂解。

##### ② 悬浮细胞：

**比例：**1 mL 试剂: 10<sup>7</sup> 个细胞。

**操作：**反复吹吸至完全裂解。

##### ③ 液体样本 (Liquid Samples)

**比例：**1 mL 试剂: 0.4 mL 样本。

**补位：**样本量不足 0.4 mL 时，加无酶水补齐到 0.4 mL 后加入试剂。

##### ④ 组织样本：

**比例：**1 mL 试剂: 100 mg 组织（高 DNA 组织如脾脏/淋巴结/肿瘤组织减半：1 mL : 50 mg）。

**操作：**立即充分匀浆。匀浆至液体无颗粒、颜色均匀、略带粘稠感（高 RNase 组织如胰腺/脾脏/肝脏等需冰上匀浆，脑组织用玻璃匀质器）。

### ⑤ 高脂肪样本（如脑组织/脂肪组织/脊髓样本等）

**除脂：**按组织样本处理匀质后先 12,000 g 离心 5 分钟，离心后多余脂质会形成顶层油脂层，使用移液枪或注射器除去大部分油脂层。取下层液继续后续提取步骤。

### 2. 杂质沉淀 (关键去除 DNA、蛋白质和多糖步骤)

① **加水：**按每 1mL NewZOL LS 加入 0.4 mL 不含 RNA 酶的水（如 ES-8087 无 DNA/RNA 酶水(无菌)）。

② **反应：**剧烈摇晃 15 秒，室温放置 5-15 分钟（组织样本需放置满 15 分钟）。

③ **离心：**室温下以 12,000×g 离心 15 分钟。

④ **取样：**吸取上清液（约占总体积 75%，如使用 1 mL 裂解液对应吸取约 1 mL 上清）转移至新管。*注意：此时 DNA、蛋白质和大部分多糖会形成半固体沉淀，RNA 留在上清液中。宁可少吸，切勿触碰底层固体。*

### 3. 总 RNA 沉淀

① **沉淀：**加入 1 倍体积的异丙醇（即 1 mL 上清液加 1 mL 异丙醇）。

② **静置：**室温放置 10 分钟

③ **离心：**室温下以 12,000×g 离心 10 分钟。弃上清，管底可见白色沉淀即为 RNA（对于脾脏等样本，RNA 可能在管侧形成凝胶状膜）。

### 4. 洗涤 RNA

① **洗涤：**加入 1mL 75% 乙醇 (v/v)，用移液器轻轻吹打漂洗沉淀。

② **离心：**室温下以 7500×g 离心 3 分钟。重复洗涤一次。

③ **干燥：**弃去上清，将离心管倒扣在洁净纸巾上，空气干燥 5-10 分钟。

*注：切勿加热干燥或真空离心干燥，否则 RNA 将极难溶解。*

### 5. 溶解 RNA

① **溶解：**用 20-50 μL 不含 RNA 酶的水（如 ES-8087 无 DNA/RNA 酶水(无菌)），反复吹打使沉淀完全溶解。

② **助溶：**若溶解困难，可在 55-60°C 下水浴孵育 10 分钟。

③ **保存：**得到的 RNA 立即进行检测或-80°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. **储存：**若暂时无法实验，可在加入 NewZOL LS 后-80°C 保存最长 1 年稳定。
2. **细胞清洗：**收集细胞时不要洗涤细胞（防止 RNA 降解），直接收集沉淀后加入试剂。
3. **组织匀浆状态：**匀浆器生热会降解 RNA，长时间务必在冰上操作并采取间歇性匀浆。
4. **防止 RNA 降解：**皮肤接触是 RNase 的主要来源。操作时必须佩戴双层手套、口罩，且所有枪头、离心管必须标注为 RNase-free。
5. **安全性（危险提示）：**必须在通风橱内操作。若不慎溅到皮肤，请立即用大量清水冲洗。