

## RNAEx ZOL 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-5301	RNAEx ZOL 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】

RNAEx ZOL Reagent 是一种即用型全能提取试剂，采用一步法苯酚/异硫氰酸胍体系，能够迅速裂解细胞及组织。

**分级原理：**加入氯仿离心后，样本分为上层水相、中间相和下层有机相。

**组分分布：**水相 (RNA)、中间相 (DNA)、有机相 (Protein)。

**应用优势：**保持 RNA 完整性，最大限度去除蛋白及 DNA 污染，适用于人、动物、植物、酵母菌或细菌的细胞和组织样本。

### 【使用方法】

#### 1. 样品处理：根据起始材料的类型，选择相应的裂解方式

① **组织：**每 50-100 mg 组织加入 1 mL RNAEx ZOL 试剂，并用匀浆器充分匀浆。

② **贴壁细胞：**移除生长培养基，每  $1 \times 10^6$ - $10^7$  个细胞直接加入约 0.5mL-1mL RNAEx ZOL 试剂培养皿中裂解细胞，反复吹打数次以匀浆化样本。

*示例：如细胞长满的 3.5cm 直径的培养皿中加入约 1mL RNAEx ZOL 试剂。*

③ **悬浮细胞：**通过离心收集细胞并弃去上清液，向（来自动物、植物或酵母来源的  $5-10 \times 10^6$  个细胞或  $1 \times 10^7$  个细菌来源细胞）样本添加 1 mL 的 RNAEx ZOL 试剂，反复吹打数次以匀浆化样本。

*注：加入 RNAEx ZOL 试剂前请勿洗涤细胞以避免 mRNA 降解*

#### 2. 相分离

① **静置：**将加完 RNAEx ZOL 试剂后的样品在室温（15-30°C）静置 5 分钟，以利于样品核蛋白复合物完全分离。

② **加氯仿**: 按每 1mL RNAEx ZOL Reagent 加入 **0.2mL 氯仿** (或 **ES-8522 氯仿替代物**)，小心盖好样品管后，剧烈震荡 15 秒，后置于室温 (15-30°C) **静置 2-3 分钟**。

③ **离心**: 在 **4°C** 下 **12,000×g** 离心 **15 分钟**。此时混合物分层，RNA 存在于上层无色水相中。

④ **转管**: 小心吸取水相转移至新管 (建议试管倾斜 45°操作，避免触及中间相)。

### 3. 沉淀 RNA

① **沉淀**: 每 1 mL 用于裂解的 RNAEx ZOL 试剂，添加 **0.5 mL 异丙醇**到转移到新管的水相中。

② **静置**: 4°C 或室温 (15-30°C) **静置 10 分钟**

③ **收集**: 在 **4°C** 下 **12,000×g** 离心 **10 分钟**。管底及管侧会出现白色凝胶状沉淀，即为 RNA。小心弃去上清液。

### 4. 洗涤 RNA

① **洗涤**: 按每 1 mL RNAEx ZOL 试剂裂解处理所得到的沉淀重悬于 **1 mL 75%乙醇**中。

② **离心**: 短暂涡旋样本，然后在 **4°C** 下 **7500×g** 离心 **5 分钟**。

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。得到的 RNA 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))。

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

#### 【注意事项】

- 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。
- 相界污染**: 吸取水相时，宁可少吸，切勿触碰中间相，否则会导致严重的 DNA 污染。
- 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，并咨询医生。