

EasyZol Reagent

货号: TQ102

保存条件: 室温储存(2~8°C更佳)

重要提示: 本品具有毒性和腐蚀性。使用本品应穿戴防护物品。如果不小心接触,应立即用大量水冲洗并前往医院治疗。

产品介绍:

本品是广谱型总RNA提取试剂。本品适用范围广泛,可以从动物组织、植物材料、微生物及细胞等样品中提取总RNA。本品对组织(小量: 50-100mg或者大量: $\geq 1g$)或者细胞(小量: 5×10^6 个或者大量 $\geq 10^7$ 个)均有良好分离效果。EasyZol在样品充分裂解后能保护RNA完整性,提取后的RNA可用于各种分子生物学实验,如RT-qPCR(新贝生物 #R201、#R202、#Q204)。

产品组成:

组分	TQ102-01
EasyZol Reagent	100 mL

注意事项:

1. 样品用EasyZol裂解或者匀浆后,置于负70°C可放置一个月以上。RNA容易降解,建议提取后尽快进行后续实验。
2. 自备试剂: 氯仿、异丙醇(新开封或提取RNA专用)、75%乙醇(DEPC水配置)、RNase Free water。
3. 自备仪器、耗材: 冷冻离心机(4°C)、离心管、移液器

产品使用:

A. 样品裂解

- 1.1 植物组织: 取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或者将植物组织剪碎后直接在EasyZol中迅速研磨。每30-100mg组织加1mL EasyZol,一般样品体积不要超过EasyZol体积的1/10。
- 1.2 动物组织: 取新鲜或者负70°C冻存的动物组织尽量剪碎,每30-100mg组织加1mL EasyZol,匀浆仪进行匀浆处理(冰上)。或者在液氮中研磨后加入1mL EasyZol混匀。一般样品体积不要超过EasyZol体积的1/10。
- 1.3 单层培养细胞: 尽量去除培养板上的培养液,按照10cm²培养板面积加入1mL的比例加入EasyZol后,反复吹打裂解细胞。(当EasyZol量不足可导致提取的RNA有DNA污染)
- 1.4 细胞悬液: 离心收集细胞。每(5-10) $\times 10^6$ 的动物细胞、植物细胞、酵母细胞或者每 1×10^7 细菌加1mL EasyZol后,用移液器反复吹打来裂解细胞。破裂某些酵母或者细菌可能需要使用匀浆器。

B. 室温放置

2. 匀浆后样品剧烈震荡后在室温放置**5分钟**以使核蛋白完全解离。
3. 可选步骤: 4°C, 12000rpm离心**10分钟**去除杂质,取上清。(如果样品中含有较多蛋白质、脂肪、多糖、肌肉、块茎结节等可离心去除。离心后的沉淀包含细胞外膜、多糖、高分子量DNA,上清含有RNA。处理脂肪组织样品,可去除上层大量油脂)

C. 加氯仿, 4°C离心

4. 每1mL EasyZol加0.2mL氯仿,盖紧管盖,剧烈震荡**15秒**并在室温下放置**3分钟**。
5. 4°C, 12000rpm离心**15分钟**离心后分三层: 下层红色有机苯酚氯仿层,中间层,上层无色的水样层(RNA)。上层体积大约为所加的EasyZol体积的50-60%。(下层和中间层是蛋白和DNA,也可提取)

D. 加异丙醇, 4°C离心

6. 将上层转移到新的离心管(剪枪头,取**60%-70%**上层体积,避免扰动中间层),加入等体积异丙醇,颠倒混匀后室温放置**10分钟**。
7. 4°C, 12000rpm离心**10分钟**离心,弃上清。(RNA沉淀在离心前通常不可见,离心后在管侧壁或者管底形成胶状沉淀)

E. 加75%乙醇, 4°C离心

8. 加入1mL 75%乙醇洗涤沉淀。
9. 4°C, 12000rpm离心**5分钟**,弃上清。(注意不要弄丢RNA沉淀,剩余少量液体可用移液器缓慢吸出)

F. 晾干, 溶解RNA

10. 室温晾干**3分钟**、加入30-100 μ L RNase free water,充分溶解RNA,溶解后的RNA立即用于下游实验或保存在负70°C。沉淀不要过分干燥,以免难于溶解。