



## 液相总RNA提取试剂 (RNAVzol LS)

### 产品说明:

本试剂是一种通用的从液相标本中提取总RNA的试剂。该试剂含有浓缩的RNAVzol，对同样量的组织和细胞用量比RNAVzol少，因此更适合于从液相标本如全血、血清、血浆、其他体液和分泌物或细胞培养上清中提取总RNA，也可用于动植物组织和细胞及细菌RNA的提取。该试剂中含有对RNA酶有强烈抑制作用的胍类物质和苯酚等，可有效防止RNA在提取过程中的降解。获得的RNA可直接用于Northern杂交，纯化mRNA，体外翻译，RNase保护实验，RT-PCR，以及cDNA克隆等一系列操作。

### 产品内容与储存方法:

名称	数量	保存条件
RNAVzol LS	100 ml	4℃

可作130次总RNA提取（0.25 ml体液/次）。常温运输，4℃保存。有效期12个月。

### 所需其它试剂:

使用者需准备氯仿，异丙醇，75%乙醇和RNA溶解液（DEPC处理水或TE 缓冲液）。

### 操作方法:

#### 1. 体液、细胞裂解或组织匀浆:

- 1) 体液：0.25 ml体液样品，加入0.75 ml RNAVzol LS，用加样器吹打混匀。如体液中细胞或其他污染成分较多，如全血，则样品需先用水稀释1倍，取0.25 ml，加入0.75 ml RNAVzol LS，使细胞完全裂解。RNAVzol LS用量应按体液（或稀释液）3倍的体积加入。
- 2) 贴壁细胞：倾去培养液，每10平方厘米（6孔板孔或35 mm平皿）细胞加入0.4 ml RNAVzol LS，使其覆盖培养细胞，再用加样器吹打2~3次，细胞应完全裂解，然后转移至离心管中。
- 3) 悬浮细胞：离心收集细胞，倾去液体，每五百万至一千万（ $5 \times 10^6 \sim 10^7$ ）动植物或酵母细胞，或一千万（ $10^7$ ）细菌，加入0.75 ml RNAVzol LS。用吸管或加样器吹打，使其完全裂解。某些酵母和细菌如裂解不充分，可用匀浆器匀浆，以确保其完全裂解。加适量水将细胞团块的体积补足至0.25 ml，混匀，转移至离心管中。
- 4) 组织：先将组织剪切成小块，放入玻璃匀浆器内。冷冻组织可在研钵中研磨匀浆。每50~100 mg组织加入0.75 ml RNAVzol LS，匀浆至完全裂解。加适量水将组织团块的体积补足至0.25 ml，混匀，转移至离心管中。

裂解产物应呈澄清的透明粘稠液体。室温放置5分钟。对于多糖、蛋白等杂质丰富的组织样品，匀浆后仍会存留有不溶物质，可12,000 g 4℃离心10分钟，然后吸取上清至一新的离心管中。样品中RNA含量估计较少时，可在裂解液中加入10~20 μg核酸助沉剂如酵母tRNA，glycogen或2~4 μl PreciNAid。

## 2. 分离:

在装有裂解物的离心管中，每0.75 ml RNAVzol LS加入0.2 ml氯仿，振荡器上充分振荡混匀30 秒，室温放置2-3分钟。12,000 g 4℃离心10分钟，然后吸取含总RNA的上层水相至一新的离心管中，每0.75 ml RNAVzol LS约可吸取0.5~0.55 ml。有机相和中间层含有DNA和蛋白质，应避免触及。

## 3. 沉淀:

每0.75 ml RNAVzol LS加入0.5 ml异丙醇，颠倒数次混匀，室温沉淀10分钟。12,000 g 4℃离心10分钟，在管底可见RNA沉淀。弃上清，每0.75 ml RNAVzol LS加入1 ml 75%乙醇，轻轻颠倒混匀，以清洗RNA沉淀。弃去液体，小心勿丢弃RNA沉淀。如RNA或核酸助沉剂沉淀团块在清洗时脱落管壁，需12,000 g 4℃离心10分钟再弃去液体。室温倒置晾干（5~10分钟）。不要使RNA沉淀完全干燥，否则RNA较难溶解。

## 4. 溶解:

加入适量DEPC 水或TE 缓冲液使RNA沉淀溶解。存放于-80℃。

## 注意事项:

- 1) RNA提取过程中所用器皿、离心管、吸头等应保污染无RNA酶。操作中应小心，防止外源性RNA酶污染样品导致RNA样品降解。步骤2中剩余的有机相和中间层可用于提取DNA和蛋白质。
- 2) 试剂中含有酚等有害物质，注意个人防护。