

NcmZol Reagent

总 RNA 提取试剂

货号: Cat.No: M5100 Size: 100ml

产品介绍

NcmZol Reagent 适用于快速、直接从多种组织和细胞中提取总 RNA 的一种广谱型试剂。NcmZol Reagent 内含优化的异硫氰酸胍、酸性酚等物质，能迅速破碎细胞，抑制细胞释放出的核酸酶，最大限度地裂解样品且同时保证 RNA 的完整性。加入氯仿离心后，溶液会分成三层：上层无色水相、中间层和下层红色有机相，其中 RNA 分布在上清无色水相中。本试剂操作快速方便，颜色分明，提取的总 RNA 完整性好，纯度高，无蛋白和 DNA 的污染，可用于各种分子生物学实验，如 RT-PCR、Real-time PCR、Dot Blot、Northern 等。

产品特点

- 使用范围广：对人、动物、植物和细菌组织提取均适用
- 操作快速：一个小时内可完成纯化步骤
- 颜色分明：溶液呈粉红色，便于分离水相和有机相
- 提取纯度高：DNA 和蛋白质污染最低，可用于多种下游实验
- 产量高：最大程度地获得样品中的 RNA

操作步骤

准备试剂（自备）：异丙醇、氯仿、75%乙醇（用 DEPC 处理的双蒸水配制）、无 RNase 的水。

1. 各种材料样本的匀浆处理

(a) **贴壁培养的细胞**：吸去培养基，用 PBS 清洗一次，在培养板中直接加入适量的 NcmZol Reagent（每 10cm²生长的培养细胞中加入 1ml 的 NcmZol Reagent），水平放置片刻，便于裂解液均匀分布细胞表面裂解，再使用移液器吹打细胞并移至收集管中。

注意：(1) 收集细胞数量不要超过 1X10⁷/ml NcmZol Reagent；

(2) NcmZol Reagent 加入量根据培养板面积确定，若是 NcmZol Reagent 加入量不足，可能导致提取的 RNA 中有 DNA 污染。

(b) **悬浮培养细胞**：将悬浮培养的细胞和培养基一起倒入离心管中，离心收集细胞，每 5X10⁶-1X10⁷动植物、酵母或细菌细胞加入 1ml NcmZol Reagent。

注意：(1) 部分酵母和细菌细胞可能需要匀浆仪或液氮研磨处理；

(2) 加入 NcmZol Reagent 前不要洗涤细胞，以免 RNA 降解。

(c) **动物、植物组织**：取新鲜或-70℃冷冻的动植物组织在液氮中充分减碎研磨，将研磨成粉状的样品转移至离心管中，每 20-50mg 组织加入 1ml NcmZol Reagent，匀浆仪进行匀浆处理。

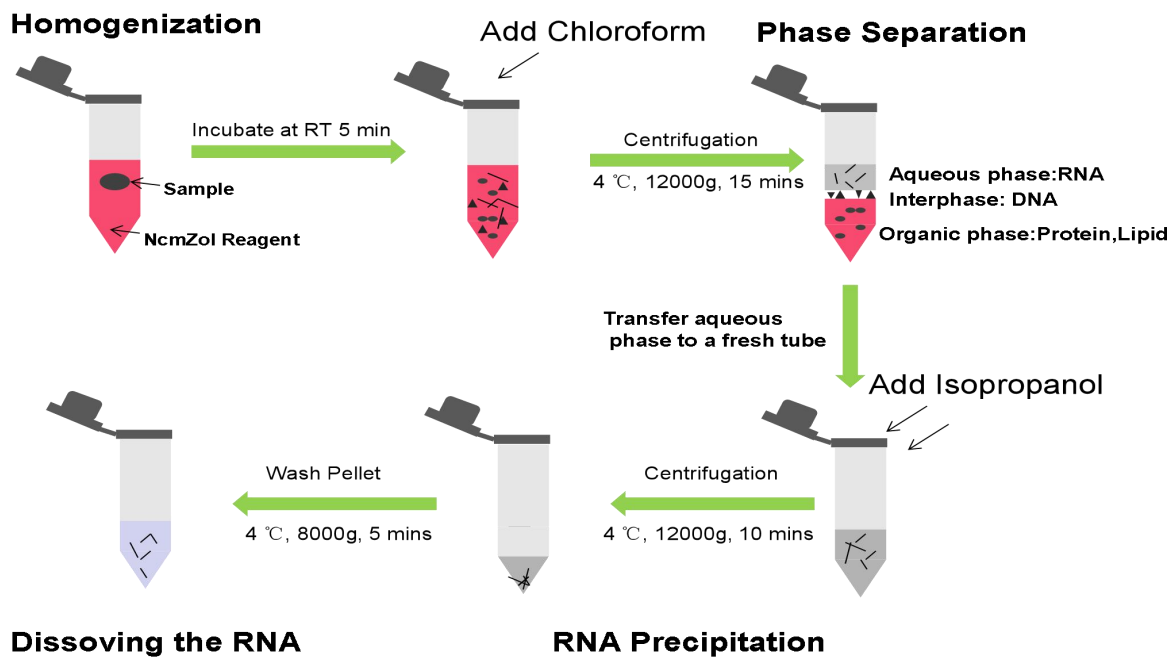
注意：(1) 要在液氮等低温下处理样品组织，避免 RNA 降解；

(2) 样品体积一般不要超过 NcmZol Reagent 体积的 10%。

2. 样品在加入 NcmZol Reagent 后用移液器反复吹打几次，直至裂解液中无明显沉淀，使样品充分裂解。室温静置 5 分钟，使得蛋白质核酸复合物完全分离。

- 向上述溶液中加入氯仿，每使用 1ml NcmZol Reagent 加入 0.2ml 氯仿，剧烈振荡 15 秒，室温静置 5 分钟。
- 12,000g, 4℃ 离心 15 分钟，此时样品会分为三层：红色有机相、中间层和上层无色水相。其中 RNA 主要在水相中，将水相（约 500u1）转移至一个新的 RNase-Free 的离心管中。
- 在得到的无色水相的离心管中，每使用 1ml NcmZol Reagent 加入 0.5ml 异丙醇（等体积的异丙醇），颠倒混匀，室温静置 10 分钟。
- 12,000g, 4℃ 离心 10 分钟，弃去上清，在管壁和管底形成胶状沉淀，即 RNA。
- 加 1ml 75%乙醇（用 DEPC 处理的双蒸水配制）洗涤沉淀，每使用 1ml NcmZol Reagent 用 1ml 75%乙醇，然后 8,000g, 4℃ 离心 5 分钟。
- 弃去上清（为了获得更纯的 RNA，应尽量除尽乙醇），室温晾干沉淀（大约 5 分钟左右）。
- 加入 20-50u1 的无 RNase 的水，充分溶解 RNA，样品保存于-70℃ 以备长期使用。

操作示意图



保存条件

4℃ 保存，室温运输，2 年有效；

注意事项

- 预防 RNase 污染，降解 RNA，如：使用无 RNase 的塑料制品和枪头，操作时要戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套。
- 加入氯仿后，一定要充分振荡，保证 RNA 提取的效果
- 使用的样本避免反复冻融，以免影响 RNA 的产率和质量。
- NcmZol Reagent 含有苯酚，具有毒性和腐蚀性，使用本制品时要穿戴防护物品，避免吸入体内、接触皮肤、吞食等现象发生。如果不小心发生，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。