

Lezol(总 RNA 提取试剂)

产品简介

Lezol 是一种自主研发和生产的用于细胞或组织的总 RNA 提取试剂, Lezol 采用与 Invitrogen TRIzol 相似的原理和方法, Lezol 颜色、抽提的方法和步骤亦与 Invitrogen TRIzol 完全相同。Lezol 含酚和异硫氰酸胍等物质,能迅速裂解细胞或组织并且灭活核酸酶,保持 RNA 的完整性,加入氯仿并离心后,溶液形成上层为水相(无色)、中间层、下层为有机相(红色),上层用异丙醇沉淀回收总 RNA,中间层用乙醇沉淀回收 DNA,下层用异丙醇沉淀回收蛋白。

Lezol 适用于从各种组织或细胞中快速分离总 RNA,既可用于少量样品(50~100mg 组织、 5×10^6 细胞),也可用于大量样品(>1g 组织/>107 细胞)。提取的总 RNA 质量高,可用于 Northernblot、Dotblot、polyA 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆,Lezol 具有以下特点:①适用范围广;②操作简单,整个过程 1 小时内完成;③纯度高;④污染少。该试剂仅用于科研领域,不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成

名称	编号	Storage
	Lezol Reagent	ADS253R1
使用说明书	1 份	

自备材料

- 1、试剂:无水乙醇、氯仿、异丙醇、DEPC 处理水等。
- 2、耗材:RNase 广泛存在于人的皮肤上和体液及环境中,RNase 是导致 RNA 降解的最主要物质,非常稳定。操作时应佩戴一次性口罩、手套、帽子。塑料制品、玻璃和金属物品、实验仪器等应清除 RNase,移液器吸头、EP 管等制品的 RNasefree 处理尤为重要。
- 3、仪器:低温高速离心机、低温冰箱。

操作步骤(仅供参考)

1、样品准备

(1)贴壁细胞:

- ①直接裂解:直接在培养瓶/皿中加入 Lezol 裂解细胞,每 10cm² 面积加 1ml Lezol,用移液器吹打混匀。
- ②胰蛋白酶消化:用无菌 PBS 洗涤细胞后,加入含有 0.05~0.25%胰蛋白酶的 PBS 处理细胞,当细胞脱离容器壁后,加入含有血清的培养基终止反应,将细胞溶液转移至无 RNase 的离心管中,5000~6000g 离心 5min,收集细胞沉淀,去除上清。收集细胞时一定要将细胞培

养液去除干净，否则裂解不完全，降低 RNA 收获率。

- (2)悬浮细胞：无需清洗细胞，直接 5000~6000g 离心 5min，收集细胞，每 $5 \times 10^6 \sim 10^7$ 动物、植物和酵母细胞或每 10^7 细菌细胞加入 1mlLezol。
 - (3)组织：取新鲜动物或者植物组织或者 -70°C 冻存组织，50~100mg 组织在液氮中充分研磨或者加入 1mlLezol 研磨或者用匀浆器匀浆处理。样品体积一般不超过 Lezol 体积的 10%，研磨要迅速，以 1min 为佳。
 - (4)血液：取 0.5~1ml 新鲜或冻存的血液，12000g 离心 5min，去除血浆，加入 1mlLezol，充分振荡混匀。
- 2、核酸分离：充分振荡混匀(可以置于低温/超低温冰箱冻存 5~10min 后，充分振荡，反复 1~3 次)，将裂解样品或匀浆液室温放置 5~10min，使核蛋白与核酸完全分离。
 - 3、样品分层：加入 0.2ml 氯仿/1mlLezol，剧烈振荡 15s，室温放置 2~3min，置于 4°C 离心机，12000g 离心 10~15min；上层为水相，中间层和下层为有机相，RNA 在上层水相。
 - 4、沉淀 RNA：吸取上层水相(约 500 μl)转移至无 RNase 的离心管中(不要吸取任何中间层物质，否则会有染色体 DNA 污染)，加入等体积异丙醇混匀(或者加入 1.2 倍体积 Lezol 专用 RNA 沉淀液，超低温冰箱放置 2~3hr,可以大大提高 RNA 回收率)，室温放置 15~20min，12000g 4°C 离心 10min，离心后管侧或管底形成胶状沉淀，弃上清。
 - 5、洗涤 RNA：加入 1mlDEPC 水配制的 75%乙醇/1mlLezol 洗涤沉淀(或者加入 1mlLezol 专用 RNA 洗涤液，可以大大提高 RNA 纯度)，室温放置 5~10min，7500g 4°C 离心 5min，弃上清，室温干燥 5~10min，不宜过分干燥，否则 RNA 难以溶解。
 - 6、溶解 RNA：加入 30~50 μl RNase-free dH_2O 充分溶解 RNA， -70°C 长期保存或直接用于后续试验。对于肝、胰腺、肾等组织中 RNase 含量高的样品，沉淀时用 100%去离子甲酰胺溶解。

分析与定量

- 1、测定样品在 260nm 和 280nm 的吸收值确定 RNA 的质量，按 $1\text{OD}=40\text{pgRNA}$ 计算 RNA 的产率， $\text{OD}_{260/280}$ 在 1.8~2.0 视为抽提 RNA 纯度较好，浓度在 4 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 以上的样品适于用分光光度计测定。
- 2、进行甲醛变性琼脂糖电泳，确定 RNA 的完整性和污染情况。
- 3、核酸分析仪测定 RNA 的质量和纯度。

注意事项

- 1、样品保存：加入 Lezol 混匀后，样品可在 -70°C 放置 1~2 月；RNA 样品可以在 70%酒精中 -70°C 保存 2~4 周：如果需要长期保存，应置于超低温冰箱中保存。
- 2、Lezol 是强腐蚀性物质，污染皮肤或眼睛后，立即用清水或生理盐水冲洗，必要时寻求

医生的帮助。

3、Lezol 可常温运输，建议保存 4°C 保存。

4、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：12 个月。常温运输，4°C 保存。

