

Lezol (总RNA提取试剂盒)

产品货号: T11163

产品规格: 50ml/100ml

产品简介:

Lezol是一种尚宝生物自主研发和生产的用于细胞或组织的总RNA提取试剂。Lezol采用不Invitrogen TRIzol相似的原理和方法, Lezol颜色、抽提的方法和步骤亦不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。

尚宝生物 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/ $>10^7$ 细胞)。提取的总RNA质量高, 可用于Northern blot、Dot blot、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:

试剂名称	规格	保存条件
Lezol (总RNA提取试剂盒)	50ml/100ml	4°C, 避光

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RNase free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 接裂解: 直接在培养瓶/皿中加入Lezol裂解细胞, 每 10cm^2 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1ml Lezol。
 - 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1ml Lezol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1ml Lezol, 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, 使核蛋白不核酸完全分离。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

3. 样品分层: 加入0.2ml氯仿/1ml Lezol, 剧烈振荡15s, 室温放置2~3min。置于4℃离心机, 12000g离心10~15 min。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倍体积尚宝生物Trizol与用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℃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1ml DEPC水配制的75%乙醇/1ml Lezol洗涤沉淀(或者加入1ml尚宝生物Trizol与用RNA洗涤液, 可以大大提高RNA纯度), 室温放置5~10min, 7500g 4℃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30~50ul RNase-free ddH₂O充分溶解RNA, -70℃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1OD=40pg RNA计算RNA的产率。OD_{260/280}在1.8~2.0视为抽提RNA纯度较好。浓度在4 μg/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℃放置 1~2 月; RNA 样品可以在 70%酒精中-70℃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℃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。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 个月有效。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>