

NuProZol Reagent

货号：400-300

运输储存条件： NuProZol Reagent 于 2-8℃ 运输保存，保质期为一年。

产品简介

NuProZol Reagent 适用于从细胞、动物组织样品中快速提取高质量的总 RNA。本试剂含异硫氰酸胍和酚，能迅速裂解生物样品并失活 RNA 酶，确保 RNA 提取的完整性。NuProZol Reagent 能快速裂解样本，经氯仿或氯仿替代物抽提后，分为上清层(含 RNA)、中间层和红色的有机层，用异丙醇沉淀、乙醇洗涤得到产量和纯度高的 Total RNA。获得的 Total RNA 可以直接用于 RT-PCR、qRT-PCR、Northern Blot、高通量测序等分子生物学实验。

产品组成

产品编号	组分	规格
400-300	NuProZol Reagent	100 ml

准备事项

1. 本试剂含酚，最后一步加 RNase free water 溶解沉淀之前的步骤全程在通风橱操作，并穿戴好防护物品，如防护服、手套、眼罩、面罩等。如果不慎接触到眼睛，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗；接触到皮肤，请立即用大量去垢剂和水冲洗，如仍有不适，请前往医院治疗。
2. 自备试剂：氯仿或氯仿替代物（货号：400-301）、异丙醇（新开封或提取 RNA 专用）、75%乙醇(用 DEPC 处理过的水配制)、RNase free water 或者 DEPC 处理过的水。
3. 提前运行 4℃ 离心机使其温度降低至 4℃。

操作步骤

1. 匀浆处理

a. 动物组织

每 50~100 mg 组织加 1 ml 的 NuProZol Reagent 裂解液后匀浆。组织样品容积不能超过 NuProZol Reagent 容积的 10%。研磨应尽可能充分快速，并保证低温，以防止 RNA 降解。

b. 贴壁细胞

弃去培养液，直接向直径 3.5 cm 的培养板中加入 1 ml NuProZol Reagent 裂解液，覆盖并反复吹打裂解细胞。依据培养板的面积而非细胞的数量来决定所需的 NuProZol Reagent 量（每 10 cm² 加 1 ml）。当 NuProZol Reagent 量不足时会导致 DNA 污染。

c. 悬浮生长的细胞

离心沉淀收集细胞，小心弃上清。每 5~10×10⁶ 的动物细胞加 1 ml 的 NuProZol Reagent。在 NuProZol Reagent 试剂中用移液枪反复吹打来裂解细胞。

2. 将匀浆样品剧烈振荡混匀 1-3 次，室温放置 5 分钟，以使核蛋白体完全分解。
3. 加入 0.2 ml 氯仿或氯仿替代物（货号：400-301）。盖紧样品管盖，剧烈振荡 15 秒，室温放置 3 分钟。
4. 于 4℃ 离心机 12,000×g 离心 15 分钟，样品会分成三层：下层有机相，中间层和上层无色的水相，RNA 存在于水相中。吸取约 500 μl 水相到新管中（不要触碰中间层）。
5. 加入与水相等体积的异丙醇，上下颠倒混匀，室温静置 10 分钟。12,000 × g，4℃ 离心 10 分钟，通常可看见白色沉淀，小心弃去上清。
6. 加入 1 ml 75%乙醇（用 DEPC 水或 RNase free water 配制）。轻弹管底，让沉淀悬浮起来，并上下颠倒数次。
7. 于 4℃ 离心机 12,000×g 离心 5 分钟，小心弃去上清。注意：剩余的少量液体可短暂离心，然后用枪头吸出，注意不要吸弃沉淀。
8. 在超净台中室温敞口干燥沉淀 2 - 5 分钟，加入 30 -100 μl DEPC 水或 RNase free water 溶解沉淀，室温涡旋或用移液器反复吹打，使 RNA 沉淀充分溶解。

注意事项

1. 选用质量良好离心管耗材，防止离心管在实验过程破裂或试剂溅出。
2. 为保证提取质量，建议全程使用无 RNA 酶的试剂耗材，尤其是 RNA 洗脱步骤。
3. 样品用 NuProZol Reagen 匀浆后，如果不即刻进行实验，加入氯仿之前，置于 -70℃ 下可放置一个月。保存在 75%乙醇中的 RNA 沉淀，2-8℃ 可以保存一周，-20℃ 条件下可以保存 1 年。RNA 半衰期比较短，容易降解，建议提取后尽快进行后续实验，如反转录成 cDNA，Northern Blot 等。