



ZJ RNAex Lysis Buffer (trizol)

CAT. NO. ZJ0047

规格：100ML

保存条件：RT保存12个月

需要的试剂：

氯仿、异丙醇、75%乙醇(用DEPC水配制)、RNase free 水、组织匀浆。

操作步骤：

1、样本处理

(1) 取出高温高压消毒后研钵，切取 50-100mg 冰冻组织置于研钵内，倒入液氮，研碎；

(2) 每50-100mg 均浆组织标本中加入 1ml 的 ZJ RNAex Lysis Buffer，标本的量不能超过 ZJ RNAex Lysis Buffer 体积的 10%，否则会出现 DNA 污染；

(3) 将以上匀浆标本转移到 1.5ml 的EP 管中，在15-30°C 放置 5min，以彻底分离核蛋白复合体；

2、相分离

加入 0.2 ml 的氯仿，加盖好后用手剧烈摇晃 15s，在15-30°C 放置2-3min，然后离心 12,000×g，15min；离心后分成三层，取上层水相。RNA 只存在于水相中，水相占总体积的 60%。

3、RNA 沉淀

将上层水相转移到另一干净的 EP 管中，加入0.5ml 异丙醇，15-30°C，静置10min，然后12,000×g，4°C离心10min。离心前可以在管的侧壁和底部看到絮状胶样沉淀，这就是 RNA 沉淀。

4、RNA 洗涤

去上清，加入 1ml 75%乙醇洗涤 RNA 沉淀，振荡器混匀，7,500×g，4°C 离心 5min。

5、RNA 再溶解

去上清，置真空或空气中 5-10min，干燥 RNA 沉淀。注意不能将 RNA 沉淀完全干燥，这样会极大地降低它的溶解度。部份溶解的 RNA 样品其 A260/280 比值 < 1。用无 RNase 水或 0.5% SDS 溶液重悬 RNA 沉淀，用枪头反复吹打几次，55-60°C，静置10min。测浓度后-20°C 保存。

6、测浓度

取2ul储存液加入另一个EP管中,再加入98ul无RNase水,离心混匀,以无RNase水作空白对照,测OD260/280值。OD260/280 值在1.8-2.0视为纯度很高。

- 一般浓度在1000ng/ul较准。浓度太高要稀释以后再测定。
- RNA鉴定:琼脂糖电泳,确定抽提RNA完整性和DNA污染情况。

注意事项:

在使用 ZJ RNAex Lysis Buffer的时候要带手套和眼罩，避免接触到皮肤和衣服，使用化学通风橱，防止蒸汽吸入。

除非特别说明，所有的操作均在 15-30°C 下进行，所用的试剂均放置于 15-30°C。

组织在加入氯仿之前是可以在-60至-70°C 放置一个月。RNA 沉淀在 75%乙醇中在 2至8°C 下至少可以放置一周，在-5至-20°C至少可以放置一年。