

天
净
沙
系
列

CAT#:211231-50

常温运输和保存

BINGENE

软骨 RNA 纯化试剂盒（过柱法）

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6605850; 电邮: order@bingene.com

<p>产品及特点</p>	<p>本产品专门从各种软骨组织样品中快速纯化总 RNA 的试剂盒，它能有效克服传统 TRIzol 方法提取软骨组织 RNA 时，十分容易产生糖蛋白和酸性多糖污染这一缺点。本产品具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 能有效去除糖蛋白、粘蛋白污染。 2. OD260/280 一般均在 1.9 以上。 3. RNA 产率一般为 5-15 ug/100 mg。 4. 操作简单，整个提取过程一般只需要 10 多分钟。 5. 得到的 RNA 可以直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、mRNA 纯化、Primer Extension、RNA Protection、in vitro translation 等研究。 6. 本产品只能用于科研。 																																			
<p>规格及成分</p>	<table border="1"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>规格</th> <th>包装材料</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>软骨 RNA 纯化溶液 A</td> <td>211231a</td> <td>50 mL</td> <td>60mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>软骨 RNA 纯化溶液 B</td> <td>211231b</td> <td>15 mL</td> <td>15mL 棕色瓶</td> </tr> <tr> <td>软骨 RNA 纯化溶液 C</td> <td>211231c</td> <td>50 mL</td> <td>60mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>离心吸附柱</td> <td>220144</td> <td>50 套</td> <td>塑料袋</td> </tr> <tr> <td>通用洗柱液</td> <td>220143</td> <td>50 mL</td> <td>60mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>RNA 洗脱液</td> <td>71207</td> <td>10 mL</td> <td>10mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>211231sc</td> <td>1 份</td> <td>无</td> </tr> </tbody> </table>				成份	编号	规格	包装材料	软骨 RNA 纯化溶液 A	211231a	50 mL	60mL 本色瓶	软骨 RNA 纯化溶液 B	211231b	15 mL	15mL 棕色瓶	软骨 RNA 纯化溶液 C	211231c	50 mL	60mL 本色瓶	离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋	通用洗柱液	220143	50 mL	60mL 本色瓶	RNA 洗脱液	71207	10 mL	10mL 本色瓶	使用手册	211231sc	1 份	无
成份	编号	规格	包装材料																																	
软骨 RNA 纯化溶液 A	211231a	50 mL	60mL 本色瓶																																	
软骨 RNA 纯化溶液 B	211231b	15 mL	15mL 棕色瓶																																	
软骨 RNA 纯化溶液 C	211231c	50 mL	60mL 本色瓶																																	
离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋																																	
通用洗柱液	220143	50 mL	60mL 本色瓶																																	
RNA 洗脱液	71207	10 mL	10mL 本色瓶																																	
使用手册	211231sc	1 份	无																																	
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输和保存，有效期一年。溶液 B 4℃ 保存。</p>																																			
<p>自备试剂</p>	<p>氯仿。</p>																																			
<p>使用方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 先将 50-200 mg 新鲜或冷冻的软骨组织在研钵中液氮研磨成粉，加入到装有 1 mL 软骨 RNA 纯化溶液 A 的 1.5mL 离心管中（软骨 RNA 纯化溶液 A 低温放置会产生沉淀，如果有沉淀，使用前必须放在 65℃ 水浴使沉淀彻底溶解并摇晃混匀），振荡混合 30 秒。也可以将软骨组织剪碎后与软骨 RNA 纯化溶液 A 在 10-15mL 塑料管中用 Polytron 匀浆机(内切式匀浆机)匀浆 5-20 秒，再转移到 1.5 mL 离心管中。匀浆时会产生泡沫，但不影响提取效果。 2. 在离心管中加入 0.3 mL 的软骨 RNA 纯化溶液 B 和 0.2 mL 自备氯仿，在振荡器上振荡 30 秒混匀，此时溶液呈均匀的乳浊状。振荡器振荡时必须使管底溶液震荡起来。 3. 室温 12000-15000 g 离心 3-5 分钟，两相间将有约 5-10 毫米厚的细胞破碎物。 																																			

4. 将上清液(约 0.6 mL)转移到另一干净的 1.5 mL 塑料离心管中,下层有机相和中间层含有 DNA、蛋白质和其他杂质,避免触及或吸取。最好留下 100 uL 上清液不取。
5. 加入等体积的软骨 RNA 纯化溶液 C,充分颠倒混匀。
6. 将一半的溶液转移到离心吸附柱中, 12000-15000 g 室温离心半分钟,弃穿透液。
7. 将剩下的一半溶液转移到同一离心吸附柱中, 12000-15000 g 室温离心半分钟,弃穿透液。
8. 加 0.7 mL 通用洗柱液,室温离心半分钟,弃穿透液。
9. 加 0.3 mL 通用洗柱液,室温离心半分钟,弃穿透液。此步可以省略。
10. 室温离心半分钟。此步十分重要,否则残留的乙醇会影响 RNA 的使用。
11. 将离心吸附柱转移到自备的 RNase-free 离心管中,加入 50uL RNA 洗脱液,室温放置 1-2 分钟。
12. 12000-15000 g 室温离心半分钟,离心管中溶液即为 RNA 样品,可以立即使用或存放于-80℃待用。
13. RNA 完整性的电泳检测: 如果需要做 Northern 杂交,强烈建议用户使用甲醛变性胶进行 RNA 电泳,因为非变性胶不能分离所有的 RNA 分子 (BioTechniques, 28: 414, 2000)。
14. RNA 产量产率测定: 可以用 Nanodrop 测 RNA 的浓度。如果用常规分光光度计,则将 5μL RNA 溶于 TE 缓冲液中(pH7.5-8.2 之间)检测其在 OD260 的光吸收。通过光吸收可以得出 RNA 浓度(1 OD260 的 RNA=40 μg/mL),进而计算出 RNA 的产量(浓度 X 体积)和产率(RNA 产量/组织用量)。注意: 测定 OD 时不要稀释过度,否则浓度会在仪器能测的范围之外。本方法提取的 RNA 测 OD 时一般最多只能稀释 10-20 倍。
15. RNA 纯度测定: 无污染的总 RNA 的 OD260/OD280 一般在 1.8-2.1 之间(具体数值与其碱基组成和溶液成分等多种因素有关),高于此范围则分别表示样品可能有蛋白质污染,但一般不影响 RT-PCR 等反应。

关联产品

固相 RNase 清除剂