

天
净
沙
系
列

CAT#:980804-50
常温运输及保存

BINGENE

真菌 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: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

<p>产品及特点</p>	<p>本产品专门用于真菌 RNA 的纯化，它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 柱式操作，更加简单快捷，整个过程只需要约 30 分钟。 2. RNA 纯度高，OD260/280 一般都在 2.0 左右，可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、microarray hybridization、cDNA 合成等实验。 3. RNA 产量高，一般在 20-70 ug/mL 酵母培养物(约 2.0 × 10E7 个细胞)。 4. 非酶细胞破裂法, 适用于各种形态和各个种属的真菌, 包括 <i>Candida albican</i>、<i>Saccharomyces cerevisiae</i>、<i>Schizosaccharomyces pombe</i>、<i>Pichia pastoris</i> 等。 5. 本产品足够 50 次微量纯化实验。 6. 本产品只能用于科研。 																																				
<p>规格及成分</p>	<p style="text-align: center;">本产品采用大扁盒包装</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th style="width: 25%;">成份</th> <th style="width: 25%;">编号</th> <th style="width: 25%;">规格</th> <th style="width: 25%;">包装材料</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>真菌 RNA 纯化溶液 A</td> <td>980804a</td> <td>20 mL</td> <td>30mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>真菌 RNA 纯化溶液 B</td> <td>980804b</td> <td>25 mL</td> <td>30mL 棕色玻璃瓶</td> </tr> <tr> <td>真菌 RNA 纯化溶液 C</td> <td>980804c</td> <td>75 mL</td> <td>125mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>真菌 RNA 纯化溶液 D</td> <td>980804d</td> <td>25 mL</td> <td>30mL 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>971207</td> <td>10 mL</td> <td>10 mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>980804sc</td> <td>1 份</td> <td>无</td> </tr> </tbody> </table>	成份	编号	规格	包装材料	真菌 RNA 纯化溶液 A	980804a	20 mL	30mL 本色瓶	真菌 RNA 纯化溶液 B	980804b	25 mL	30mL 棕色玻璃瓶	真菌 RNA 纯化溶液 C	980804c	75 mL	125mL 本色瓶	真菌 RNA 纯化溶液 D	980804d	25 mL	30mL 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	971207	10 mL	10 mL 本色瓶	使用手册	980804sc	1 份	无
成份	编号	规格	包装材料																																		
真菌 RNA 纯化溶液 A	980804a	20 mL	30mL 本色瓶																																		
真菌 RNA 纯化溶液 B	980804b	25 mL	30mL 棕色玻璃瓶																																		
真菌 RNA 纯化溶液 C	980804c	75 mL	125mL 本色瓶																																		
真菌 RNA 纯化溶液 D	980804d	25 mL	30mL 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	971207	10 mL	10 mL 本色瓶																																		
使用手册	980804sc	1 份	无																																		
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输和保存，有效期一年。</p>																																				
<p>自备试剂</p>	<p>氯仿</p>																																				
<p>使用方法</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 将 50mg 左右的干菌丝(或 100 mg 左右的鲜菌丝、或适当数量的真菌菌落)转移到 1.5 mL 塑料离心管中。如果是液体真菌培养物，则直接将 1- 10 mL 液体真菌在 1.5 mL 塑料离心管中 12000- 15000 g 离心 1 分钟，并弃尽液体培养基（可以分多次离心）。 2. 加入 0.4 mL 真菌 RNA 纯化溶液 A 并充分吹打混匀。如果真菌 RNA 纯化溶液 A 存放时产生沉淀，请置于 65℃融化，用前充分摇晃均匀。 3. 加入 0.4 mL 溶液 B，剧烈振荡 30 秒。 4. 65℃保温 5 分钟。 5. 室温 12000-15000 g 离心 3-5 分钟，转移上清到一干净的 1.5 mL 塑料离 																																				

心管中。

6. 再加入 0.1 mL 真菌 RNA 纯化溶液 B 和 0.1 mL 自备氯仿, 振荡混匀 30 秒。
7. 室温 12000- 15000 g 离心 3-5 分钟, 转移上清到一自备的、干净的 5 mL 塑料离心管中。
8. 加入相当于上清 3 倍体积的真菌 RNA 纯化溶液 C (约 1.2-1.5 mL) 和 1 倍体积的溶液 D (约 0.4-0.5 mL), 充分混匀。
9. 将混合液 (约 2.5mL) 分 3-4 次转移到离心吸附柱中。每次 13000-15000 g 室温离心半分钟, 弃收集管中的穿透液。
10. 用 0.5 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中, 室温离心半分钟, 弃收集管中的穿透液。
11. 一次洗涤一般足够去除杂质。但如果样品 OD260/280 比值不高, 可以再用 0.5 mL 通用洗柱液重复此步一次。
12. 室温离心半分钟。此步十分重要, 否则残留的洗柱液会影响 RNA 的使用。
13. 将离心吸附柱转移到一自备的 RNase-free 1.5 mL 塑料离心管中, 加入 30-100 uL RNA 洗脱液。
14. 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。
15. RNA 完整性的电泳检测:
16. 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。
17. RNA 产量产率测定:
将 5- 10 μ L 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 μ g/mL), 进而计算出 RNA 的产量 (浓度 \times 体积)和产率(RNA 产量/真菌用量)。注意不要将 RNA 稀释在 DEPC 水中检测 OD260 和 OD280, 否则光吸收比在 TE 中测得的低 10%- 15%。
18. RNA 纯度测定:
无污染总 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), OD260/OD230 一般在 2.0-2.3 之间, 如果低于或高于此范围则分别表示样品可能有蛋白质或多糖的污染, 但一般不影响 RT-PCR 等反应。蛋白质污染可以通过酚/氯仿抽提一次然后酒精沉淀去

	除，DNA 和多糖污染可以分别用多糖清除剂去除。测 OD 时 RNA 不能过度稀释使 OD 读数低于仪器的有效范围,如果低于一起的检测范围,该读数无效。
关联产品	真菌 DNA 纯化试剂盒

20220307dx