

天
净
沙
系
列

CAT#:101113-50
常温运输, 4°C保存

TIANDZ

柱式软体动物 RNA_{OUT}

Column Mollusk RNA_{OUT}

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506
网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

| <p>产品及特点</p> | <p>本产品专门从各种软体组织样品中快速提取总 RNA 的试剂盒，它能有效克服传统 TRIzol 方法提取软体组织 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. 适用于用常规方法难以提取的、各种富含多糖的软体动物，包括螺类、贝类、乌贼、章鱼和蜗牛等。 2. 能有效去除糖蛋白、粘蛋白污染，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。 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|---|----------|--|--|----|----|----------|------|---------|-------|------|---------|-------|------|---------|------|-------|-------|------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|------|----------|-----|
| <p>规格及成分</p> | <table border="1" data-bbox="612 725 1230 1238"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>50 次纸盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>溶液 A</td> <td>101113A</td> <td>50 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 B</td> <td>101113B</td> <td>15 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 C</td> <td>101113C</td> <td>50mL</td> </tr> <tr> <td>离心吸附柱</td> <td>60911</td> <td>50 套</td> </tr> <tr> <td>通用洗柱液</td> <td>60408</td> <td>50 mL</td> </tr> <tr> <td>RNA 洗脱液</td> <td>71207</td> <td>10 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>101113sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table> | | | | 成份 | 编号 | 50 次纸盒包装 | 溶液 A | 101113A | 50 mL | 溶液 B | 101113B | 15 mL | 溶液 C | 101113C | 50mL | 离心吸附柱 | 60911 | 50 套 | 通用洗柱液 | 60408 | 50 mL | RNA 洗脱液 | 71207 | 10 mL | 使用手册 | 101113sc | 1 份 |
| 成份 | 编号 | 50 次纸盒包装 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 溶液 A | 101113A | 50 mL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 溶液 B | 101113B | 15 mL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 溶液 C | 101113C | 50mL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 离心吸附柱 | 60911 | 50 套 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 通用洗柱液 | 60408 | 50 mL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RNA 洗脱液 | 71207 | 10 mL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 使用手册 | 101113sc | 1 份 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>运输及保存</p> | <p>常温运输，4℃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. 先将 50-200 mg 新鲜或冷冻的软体组织液氮研磨成粉，加入 1 mL 溶液 A 溶解（溶液 A 使用前必须放在 65℃水浴使沉淀彻底溶解并摇晃混匀），然后将研磨物转移到新的 1.5 mL 离心管中，振荡混合 30 秒。也可以将软体组织剪碎后与溶液 A 一起用 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 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

| | |
|--------------------|---|
| | <p>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。</p> <ol style="list-style-type: none"> 5. 加入等体积的溶液 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 50-100 uL 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：将 5-10 μL 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。 |
| <p>关联产品</p> | <p>固相 RNase 清除剂 (3090-250)</p> <p>柱式软体动物 DNAout (101111-50)</p> |