CAT#:120503-50 常温运输和保存



# 柱式藻类 RNAout

# Column Algal RNAOUT

使用手册 V1.1

#### 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

#### 产品及特点

本产品是天恩泽基因开发的专门针对藻类 RNA 提取开发的高效 RNA 提取 试剂。该产品特点如下:

- 1. 操作更加简单快速,处理一个样品只需要约十分钟。
- 2. RNA 纯度更高,平均 OD260/280 一般都在 2.0 左右,能够有效去除大 多数藻类中的多糖污染。
- 3. 适用于常见的各种海水和淡水藻类的 RNA 提取。
- 4. 得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、cDNA 合成等实验。
- 5. 性价比高于进口的柱式藻类 RNA 提取产品。

#### 规格及成分

成 份	编号	大纸盒包装
柱式藻类 RNA 提取溶液 A	71203a	50 mL
柱式藻类 RNA 提取溶液 B	71203b	15 mL
柱式藻类 RNA 提取溶液 C	71203c	50 mL
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	71203sc	1 份

注: 溶液 B 为淡黄色液体,使用前请观察颜色是否正常。若溶液 B 有油粒状颗粒及分层,属正常现象,不影响使用。

#### 运输及保存

常温运输和保存,溶液 B 需要 4℃保存,有效期一年。

#### 自备试剂

氯仿。

### 使用方法

- 1. 估算组织细胞的用量。每次微量提取一般需要 100-200 mg 藻类 (湿重)。 注意海水藻类需要用纯净水洗涤 2 次以免藻类沉淀中残留的海水盐分干 扰柱式藻类 RNA 提取溶液 A 的作用。
- 2. 液氮研磨破碎样品:取 100-200mg 离心得到的新鲜藻类细胞沉淀放入含液氮的研钵中,迅速将其研磨成粉末后,将粉末转移到标记的塑料离心管中,加入 1 mL 柱式藻类 RNA 提取溶液 A,立即剧烈振荡 20 秒,充分混匀。注意:柱式藻类 RNA 提取溶液 A 在 4℃放置后容易产生沉淀,使用前必须放在 65℃水浴使沉淀彻底溶解并充分摇匀后再取用。
- 3. 将液氮研磨物转移至干净的 1.5 mL 塑料离心管中。
- 4. 在离心管中加入 0.3 mL 的柱式藻类 RNA 提取溶液 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(颜色将根据 提取的藻类不同而不同)。振荡器振荡时必须使管底溶液震荡起来。

- 5. 室温 12000-15000 g 离心 3-5 分钟,两相间将有细胞破碎物。
- 6. 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。
- 7. 加入等体积的柱式藻类 RNA 提取溶液 C, 充分颠倒混匀。如果有沉淀产生(对某些含糖量高的藻类,属于正常现象),千万不要去掉沉淀,一定要把所有的混合物上柱。
- 8. 先将一半的溶液 (如果有沉淀,则将一半的悬浊液) 转移到离心吸附柱中, 13000-15000 g 室温离心半分钟,弃穿透液。
- 9. 将剩下的一半溶液转移到同一离心吸附柱中, 13000-15000 g 室温离心半分钟, 弃穿透液。
- 10. 加 0.7 mL 通用洗柱液,室温离心半分钟,弃穿透液。再加 0.3 mL 通用洗柱液,室温离心半分钟,弃穿透液。一般样品如此洗涤两次即可,但如果在第 7 步加入柱式藻类 RNA 提取溶液 C 后有沉淀产生,则需要洗三次,每次加入的通用洗涤液的量分别为 0.4、0.3 和 0.3 mL。
- 11. 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。
- 12. 将离心吸附柱转移到 RNase-free 收集管中,加入 50-100 uL RNA 洗脱液,室温放置 1-2 分钟。
- 13. 13000-15000 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。
- 14. 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)。如果电泳发现 DNA 污染严重(跟样品相关)建议使用含有 RNase-free DNase 处理步骤的柱式藻类 RNAout 2.0 (CAT#:90404),也可以另购膜结合 DNA 清除剂 (CAT#90904)。
- 15. 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)。
- 16. 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

膜结合 DNA 清除剂 (CAT#90904)

20181109dx