

天
净
沙
系
列

CAT#:81220-50
常温运输和保存

TIANDZ

柱式昆虫 RNA_{OUT}

Column Insect RNA_{OUT}

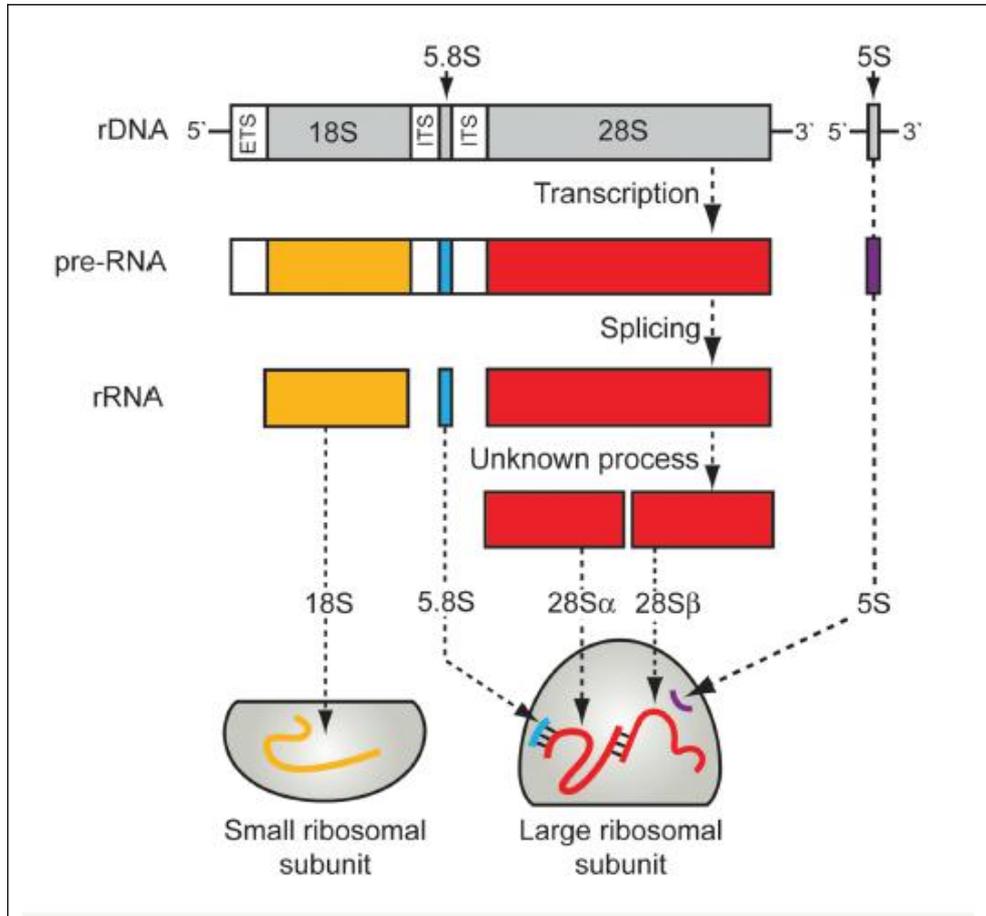
使用手册 V1.1

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	<p>本产品是专门用于从富含多糖、糖蛋白、粘蛋白的动物样品（尤其是昆虫样品）中提取总 RNA 的试剂。该产品特点如下：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 操作简单快速，处理一个样品只需要约十分钟。 2. RNA 纯度高，平均 OD260/280 一般都在 2.0 左右，能够有效去除大多数昆虫中的多糖污染。 3. 适用于各种昆虫组织，每 100mg 组织能提取到 20-30ug 总 RNA。 4. 得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、cDNA 合成等实验。 5. 一站式，提供 RNase-free 的样品收集管。 																											
规格及成分	<table border="1" data-bbox="523 640 1177 1149"> <thead> <tr> <th data-bbox="523 640 839 703">成份</th> <th data-bbox="839 640 1003 703">编号</th> <th data-bbox="1003 640 1177 703">大纸盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="523 703 839 766">柱式昆虫RNAout溶液 A</td> <td data-bbox="839 703 1003 766">81220A</td> <td data-bbox="1003 703 1177 766">50 mL</td> </tr> <tr> <td data-bbox="523 766 839 828">柱式昆虫RNAout溶液 B</td> <td data-bbox="839 766 1003 828">81220B</td> <td data-bbox="1003 766 1177 828">15 mL</td> </tr> <tr> <td data-bbox="523 828 839 891">柱式昆虫RNAout溶液 C</td> <td data-bbox="839 828 1003 891">81220C</td> <td data-bbox="1003 828 1177 891">50 mL</td> </tr> <tr> <td data-bbox="523 891 839 954">离心吸附柱</td> <td data-bbox="839 891 1003 954">60911</td> <td data-bbox="1003 891 1177 954">50 套</td> </tr> <tr> <td data-bbox="523 954 839 1016">通用洗柱液</td> <td data-bbox="839 954 1003 1016">60408</td> <td data-bbox="1003 954 1177 1016">50 mL</td> </tr> <tr> <td data-bbox="523 1016 839 1079">RNA 洗脱液</td> <td data-bbox="839 1016 1003 1079">71207</td> <td data-bbox="1003 1016 1177 1079">10 mL</td> </tr> <tr> <td data-bbox="523 1079 839 1149">使用手册</td> <td data-bbox="839 1079 1003 1149">81220sc</td> <td data-bbox="1003 1079 1177 1149">1 份</td> </tr> </tbody> </table>				成份	编号	大纸盒包装	柱式昆虫RNAout溶液 A	81220A	50 mL	柱式昆虫RNAout溶液 B	81220B	15 mL	柱式昆虫RNAout溶液 C	81220C	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	81220sc	1 份
成份	编号	大纸盒包装																										
柱式昆虫RNAout溶液 A	81220A	50 mL																										
柱式昆虫RNAout溶液 B	81220B	15 mL																										
柱式昆虫RNAout溶液 C	81220C	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	81220sc	1 份																										
运输及保存	常温运输和保存，溶液 B 最好放 4℃ 长期保存，有效期一年。																											
自备试剂	氯仿。																											
使用方法	<ol style="list-style-type: none"> 1. 将 50-300mg 昆虫组织放入 10-15 mL 塑料离心管中，加入 1 mL 溶液 A，然后用匀浆器匀浆 5-20 秒。匀浆时会产生泡沫，但不影响提取效果。也可以使用液氮碾磨法破碎昆虫组织，碾磨完后加入 1 mL 溶液 A。注意：溶解溶液 A 沉淀。溶液 A 在 4℃ 放置后可能会产生沉淀，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。 2. 将匀浆物或碾磨物转移至干净的 1.5 mL 塑料离心管中(可以不必转移非液体的细胞碎片)。 3. 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。 4. 室温 12,000 rpm 离心 3-5 分钟，两相间将有约 5-10 毫米厚的细胞破碎物。 5. 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。 																											

6. 加入等体积的溶液 C，充分颠倒混匀。
7. 将一半的溶液转移到离心吸附柱中，12,000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。
8. 将剩下的一半溶液转移到同一离心吸附柱中，12,000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。
9. 加 0.7 mL 通用洗柱液，室温 12,000 rpm 离心半分钟，弃穿透液。
10. 加 0.3 mL 通用洗柱液，室温 12,000 rpm 离心半分钟，弃穿透液。此步可以省略。
11. 室温 12,000 rpm 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. 12,000 rpm 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)。注意：大部分昆虫的 28S RNA 被切割成两个小的片段，彼此用氢键相连，所以在甲醛变性胶中，没有 28S 带出现 (文献见：Eva C. Winnebeck, Craig D. Millar and Guy R. Warman, Why does insect RNA look degraded? Journal of Insect Science: Vol. 10: 1-7)
15. 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 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。



膜结合 DNA 清除剂 (CAT#:90904-50)