

天
净
沙
系
列

CAT#:101121-50
常温运输和保存

TIANDZ

柱式软骨 RNA_{OUT}

Column Cartilage 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

产品及特点	本产品专门从各种软骨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。 1. 能有效去除糖蛋白、粘蛋白污染，OD260/280 一般均在 1.9 以上。 2. RNA 产率一般为 5-15 ug/100 mg。 3. 操作简单，整个提取过程一般只需要 10 多分钟。 1. 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。			
规格及成分		成 份	编 号	50 次包装 (CAT#:101121-50)
		溶液 A	101121A	50 mL
		溶液 B	101121B	15 mL
		溶液 C	101121C	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	101121sc	1 份
运输及保存	常温运输和保存，有效期一年。溶液 B 4℃保存。			
自备试剂	氯仿。			
使用方法	1. 先将 50-200 mg 新鲜或冷冻的软骨组织液氮研磨成粉，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。也可以将软骨组织剪碎后与溶液 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。
关联产品	固相 RNase 清除剂 (3090-250) 软骨 RNAout (70401-50)