天净沙系列

CAT#:221230-2

低温运输，-20℃保存

天净沙

RNA 3' 端单核苷酸生物素标记试剂盒

RNA 3' End Labelling Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品使用 T4 RNA 连接酶连接单个生物素化核苷酸到 RNA 链的 3'末端。它具有下列特点：

1. 即开即用。
2. 使用生物素化胞苷（双）磷酸盐核苷酸为底物，每次只标记一个分子。
3. 快速非放射性标记。
4. 可以用任何 RNA 为模板。
5. 反应温和，不会破坏 RNA 的现有结构。
6. 连接效率大于 75%。
7. 标记的 RNA 探针就可以直接用于下游应用，例如 RNA 电泳迁移率变动测定、RNA Pull-down 测定或 miRNA 分析。
8. 本产品足够 20 次 30 μL 体系的标记反应。
9. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用十孔盒包装

成分	编号	规格	包装
10×T4 RNA 连接酶反应缓冲液	221230-2a	100 μL	0.5 mL 绿盖管
T4 RNA 连接酶，10 U/μL	221230-2b	40 μL	0.5 mL 红盖管
非标记 RNA 对照（干粉）	221230-2c	20 次	0.5 mL 白盖管
生物素化胞苷(双)磷酸盐，0.5 mM	221230-2d	40 μL	0.5 mL 紫盖管
RNase 抑制剂，40 U/μL	221230-2e	2×10 μL	0.5 mL 本盖管
微量核酸沉淀剂	220313	2×1 mL	1.5 mL 黄盖管
50% PEG 溶液	221230-2f	300 μL	0.5 mL 橙盖管
DEPC 处理水	220337	1.5 mL	1.5mL 蓝盖管
使用手册	221230-2sc	1 份	无

注意：非标记 RNA 对照干粉在使用前需要短暂离心，然后在离心管中加入 110 μL 的 DEPC 处理水充分混匀后得到非标记 RNA 对照，10 μM 再使用，未用完的需要-20℃保存。

运输及保存	低温运输，-20℃保存，有效期一年。
自备物品	离心机，75%乙醇
使用方法	1. 在冰上解冻除了 50% PEG 溶液和 DMSO 以外的所有套装里面的管子。 2. 在 37℃下加热 50% PEG 溶液 5 到 10 分钟，直到体积呈流体状。 3. 将 5 μL 未标记 RNA 对照转移到离心管中，在 85℃下，加热 3 到 5 分钟过后立即将 RNA 放在冰上。 4. 按下表顺序添加各组分，50% PEG 溶液只能最后加入到试剂里面。

成分	对照管	待标记样本管
10×T4 RNA 连接酶反应缓冲液	3 μL	3 μL
RNase 抑制剂，40 U/μL	1 μL	1 μL
非标记 RNA 对照，10 μM	5 μL	不加
待标记 RNA 10 pmol	不加	1-50 pmol
生物素化胞苷(双)磷酸盐，0.5 mM	1 μL	1 μL
T4 RNA 连接酶，10 U/μL	2 μL	2 μL
50%PEG 溶液	15 μL	15 μL
DEPC 处理水	补水到 30 μL	补水到 30 μL

5. 将反应物在 16℃下孵育 2 小时-过夜。
6. 在连接反应管中各加入 70 μL 的 DEPC 处理水。
7. 在实验组和对照组中各加入 100 μL PCI 溶液。
8. 将混合物放在离心机中高速离心 2-3 分钟进行分离相。
9. 小心地取出顶部(水性)相并转移到无核酸酶管。
10. 加入 200 μL 微量核酸沉淀剂，颠倒 10 次混匀。
11. 在 4℃下 13000×g 离心 15 分钟。
12. 小心弃上清液。注意不要干扰沉淀。
13. 加入 300 μL 预冷的自备 75%乙醇颠倒混匀。
14. 4℃下 13000×g 离心 3 分钟，小心地去除上清。
15. 短暂离心半分钟，吸弃残留上清液，开盖室温放置 5 分钟左右。
16. 将沉淀重悬于 20 μL 的 DEPC 处理水中待用或放-80℃长期保存。

关联产品	RNA 探针生物素标记试剂盒（加尾法）