天净沙系列

CAT#:211231

常温运输和保存

天净沙

软骨 RNA 纯化试剂盒（过柱法）

Cartilage RNA Purification 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

本产品专门从各种软骨组织样品中快速纯化总 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。本产品具有下列特点：

1. 能有效去除糖蛋白、粘蛋白污染。
2. OD260/280 一般均在 1.9 以上。
3. RNA 产率一般为 5-15 μg/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。
6. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用大扁盒包装

成分	编号	规格	包装
软骨 RNA 纯化溶液 A	211231a	50 mL	60 mL 本色瓶
软骨 RNA 纯化溶液 B	211231b	15 mL	15 mL 棕玻瓶
软骨 RNA 纯化溶液 C	211231c	50 mL	60 mL 本色瓶
离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋
通用洗柱液	220143	50 mL	60 mL 本色瓶
RNA 洗脱液	971207	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	211231sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，有效期一年。软骨 RNA 纯化溶液 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在研钵中液氮研磨成粉，加入到装有 1 mL 软骨 RNA 纯化溶液 A 的 1.5 mL 离心管中（软骨 RNA 纯化溶液 A 低温放置会产生沉淀，如果有沉淀，使用前必须放在 65℃水浴使沉淀彻底溶解并摇晃混匀），振荡混合 30 秒。也可以将软骨组织剪碎后与软骨 RNA 纯化溶液 A 在 10-15 mL 塑料管中用 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 的软骨 RNA 纯化溶液 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，下层紫色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. 加入等体积的软骨 RNA 纯化溶液 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 μL 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：可以用 Nanodrop 测 RNA 的浓度。如果用常规分光光度计，则将 5μL RNA 溶于 TE 缓冲液中(pH 7.5-8.2 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