天净沙系列

CAT#:240114-2

常温运输和保存

天净沙

软体动物 RNA 提取试剂盒（过柱法）

Mollusk RNA Purification Kit (Column Method)

使用手册 V0.5

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

本产品是本公司根据很多软体动物多糖多酚的特点而专门开发的 RNA 纯化试剂盒，其提取纯化效果在多种各类软体动物中得到验证。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 10 分钟。
2. 所得到的 RNA OD260/280 平均在 2.0 左右。
3. 含有专门去除多糖和多酚的成分，污染残留少。
4. 得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、RT-LAMP、Northern 杂交、cDNA 合成等后续实验。
5. 性价比高于进口的柱式软体动物 RNA 提取产品。
6. 本产品不适合纯化软体动物小 RNA。

规格及成分

本产品采用大纸盒包装

成分	编号	规格	包装材料
软体动物 RNA 提取溶液 A	240114-2a	50 mL	60 mL 本色瓶
软体动物 RNA 提取溶液 B	240114-2b	15 mL	15 mL 棕玻瓶
软体动物 RNA 提取溶液 C	240114-2c	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	240114-2sc	1 份	1 份

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

注意：软体动物 RNA 提取溶液 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才能取用。

1. 每次微量提取需要 100-200 mg 软体动物组织。
2. 样品破碎：
   1) 匀浆法：先将新鲜软体动物组织剪切成小块，放入 10-15 mL 塑料离心管中，加入 1 mL 软体动物 RNA 提取溶液 A，然后用 Polytron 剪切式匀浆器匀浆 5-20 秒，然后见匀浆液转移到 1.5 mL 塑料离心管中。匀浆时会产生泡沫，但不影响提取效果。
   2) 液氮研磨法（适用于复杂，易降解样品）：取适量新鲜软体动物组织放入含液氮的研钵中，迅速将组织研磨成粉末后，将粉末转移到 1.5 mL 的塑料离心管中，加入 1 mL 软体动物 RNA 提取溶液 A，立即剧烈振荡 20 秒，充分混匀。

	3. 在装有匀浆液或研磨物的 1.5 mL 离心管中加入 0.3 mL 的软体动物 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。振荡器振荡时必须使管底溶液震荡起来。 4. 室温 13,000×g 离心 5 分钟，两相间将有约 5-10 mm 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。 6. 加入等体积的软体动物 RNA 提取溶液 C，充分颠倒混匀。如果有沉淀产生（对某些软体动物，属于正常现象），千万不要去掉沉淀。 7. 将一半的溶液（如果有沉淀，则先混匀后一起取用）转移到离心吸附柱中，13,000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。 8. 将剩下的一半溶液（如果有沉淀，则先混匀后一起取用）转移到同一离心吸附柱中，13,000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。 9. 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。 10. 室温离心半分钟。此步十分重要，否则残留的洗柱液会影响 RNA 的使用。 11. 将离心吸附柱转移到一个自备的干净的 RNase-free 收集管中，加入 50 μL RNA 洗脱液，室温放置 1 分钟。 12. 13,000×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）。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 处理步骤的软体动物 RNA 纯化试剂盒（过柱法，含 DNase），也可以另购 RNase-free DNase 降解 DNA。 14. RNA 产量产率测定：将 1 μL RNA 跟 1 μL TE 缓冲液中（pH 7.5-8.2 之间）混合，然后在 NanoDrop 上测其在 OD260 的光吸收和浓度，进而计算出 RNA 的产量（浓度×体积)和产率(RNA 产量/软体动物组织用量)。 15. RNA 纯度测定：无污染的总 RNA 的 OD260/OD280 一般在 1.8-2.1 之间，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	软体动物 DNA 纯化试剂盒（过柱法）