天净沙系列

CAT#:980804

常温运输及保存

天净沙

真菌 RNA 纯化试剂盒（过柱法）

Fungal 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

本产品专门用于真菌 RNA 的纯化，它具有下列特点：

1. 柱式操作，更加简单快捷，整个过程只需要约 30 分钟。
2. RNA 纯度高，$OD_{260/280}$一般都在 2.0 左右，可直接用于 RT-PCR、 Northern 杂交、microarray hybridization、 cDNA 合成等实验。
3. RNA 产量高，一般在 20-70 μg/mL 酵母培养物(约 2E7 个细胞)。
4. 非酶细胞破裂法，适用于各种形态和各个种属的真菌，包括 *Candida albican*、*Saccharomyces cerevisiae*、*Schizosaccharomycespombe*、*Pichia pastoris* 等。
5. 本产品足够 50 次微量纯化实验。
6. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用大扁盒包装

成 份	编 号	规 格	包装材料
真菌 RNA 纯化溶液 A	980804a	20 mL	30 mL 本色瓶
真菌 RNA 纯化溶液 B	980804b	25 mL	30 mL 棕色玻璃瓶
真菌 RNA 纯化溶液 C	980804c	75 mL	125 mL 本色瓶
真菌 RNA 纯化溶液 D	980804d	25 mL	30 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	980804sc	1 份	1 份

运输及保存

常温运输和保存，有效期一年。

自备试剂

氯仿

使用方法

1. 将 50 mg 左右的干菌丝(或 100 mg 左右的鲜菌丝、适当数量的真菌菌落)转移到 1.5 mL 塑料离心管中。如果是液体真菌培养物，则直接将 1-10 mL 液体真菌在 1.5 mL 塑料离心管中 12,000-15,000×g 离心 1 分钟，并弃尽液体培养基(可以分多次离心)。
2. 加入 0.4 mL 真菌 RNA 纯化溶液 A 并充分吹打混匀。如果真菌 RNA 纯化溶液 A 存放时产生沉淀，请置于 65℃融化，用前充分摇晃均匀。
3. 加入 0.4 mL 溶液 B，剧烈振荡 30 秒。
4. 65℃保温 5 分钟。
5. 室温 12,000-15,000×g 离心 3-5 分钟，转移上清到一干净的 1.5 mL 塑料离心管中。
6. 再加入 0.1 mL 真菌 RNA 纯化溶液 B 和 0.1 mL 自备氯仿，振荡混匀 30 秒。
7. 室温 12,000-15,000×g 离心 3-5 分钟，转移上清到一自备的、干净的 5 mL 塑料离

	心管中。 8. 加入相当于上清 3 倍体积的真菌 RNA 纯化溶液 C（约 1.2-1.5 mL）和 1 倍体积的溶液 D（约 0.4-0.5 mL），充分混匀。 9. 将混合液（约 2.5 mL）分 3-4 次转移到离心吸附柱中。每次 13,000-15,000×g 室温离心半分钟，弃收集管中的穿透液。 10. 用 0.5 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中，室温离心半分钟，弃收集管中的穿透液。 11. 一次洗涤一般足够去除杂质。但如果样品 $OD_{260/280}$ 比值不高，可以再用 0.5 mL 通用洗柱液重复此步一次。 12. 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。 13. 将离心吸附柱转移到一自备的 RNase-free 1.5 mL 塑料离心管中，加入 30-100 μL RNA 洗脱液。 14. 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。 15. 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。 16. RNA 产量产率测定：将 5-10 μL RNA 溶于 TE 缓冲液中(pH 7.5-8.2 之间)检测其在 OD_{260} 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×体积)和产率(RNA 产量/真菌用量)。注意不要将 RNA 稀释在 DEPC 水中检测 OD_{260} 和 OD_{280}，否则光吸收比在 TE 中测得的低 10%-15%。 17. RNA 纯度测定：无污染的总 RNA 的 OD_{260}/OD_{280} 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)，OD_{260}/OD_{230} 一般在 2.0-2.3 之间，如果低于或高于此范围则分别表示样品可能有蛋白质或多糖的污染，但一般不影响 RT-PCR 等反应。蛋白质污染可以通过酚/氯仿抽提一次然后酒精沉淀去除，DNA 和多糖污染可以分别用多糖清除剂去除。测 OD 时 RNA 不能过度稀释使 OD 读数低于仪器的有效范围，如果低于一起的检测范围，该读数无效。
关联产品	真菌 DNA 纯化试剂盒