天净沙系列

CAT#:971202

常温运输和保存

天净沙

昆虫 RNA 纯化试剂盒（过柱法）

Insect RNA Purification Kit（Column Method）

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

本产品是专门用于从富含多糖、糖蛋白、粘蛋白的动物样品（尤其是昆虫样品）中提取总 RNA 的试剂。该产品特点如下：

1. 操作简单快速，处理一个样品只需要约十分钟。
2. RNA 纯度高，平均 OD260/280 一般都在 2.0 左右，能够有效去除大多数昆虫中的多糖污染。
3. 适用于各种昆虫组织，每 100 mg 组织能提取到 20-30 μg 总 RNA。
4. 得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、cDNA 合成等实验。
5. 一站式，提供 RNase-free 的样品收集管。

规格及成分

本产品使用大扁盒包装

成份	编号	规格	包装材料
昆虫 RNA 纯化溶液 A	971202a	50 mL	60 mL 本色瓶
昆虫 RNA 纯化溶液 B	971202b	15 mL	15 mL 棕玻瓶
昆虫 RNA 纯化溶液 C	971202c	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	971202sc	1 份	1 份

运输及保存

常温运输和保存，昆虫 RNA 纯化溶液 B 最好放 4℃长期保存，有效期一年。

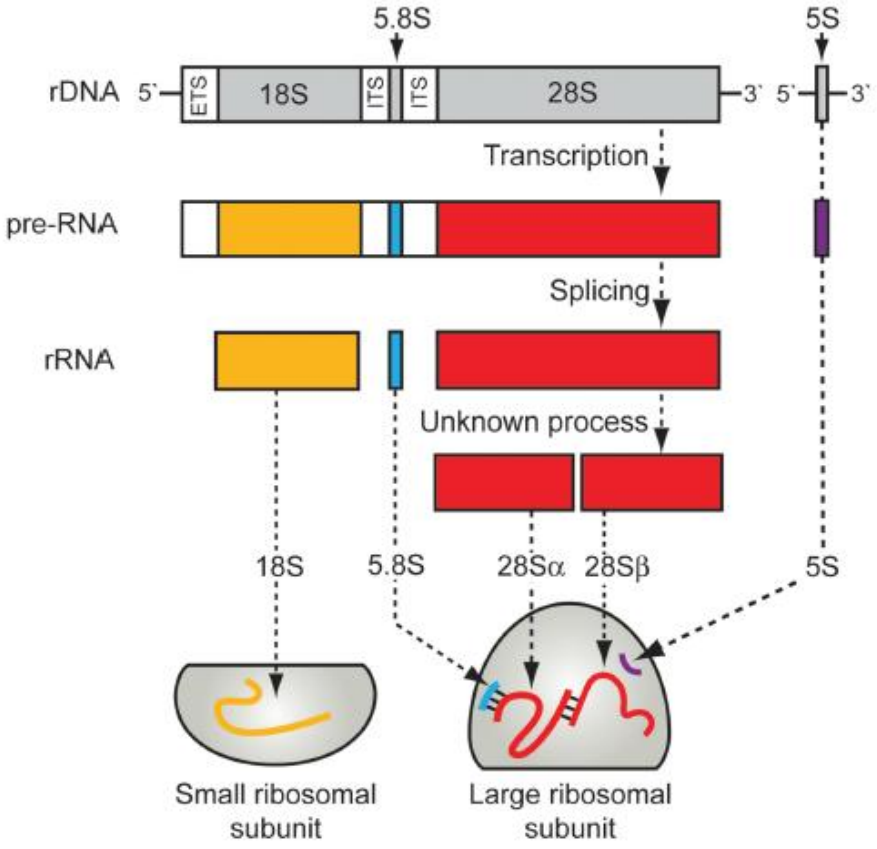
自备试剂

氯仿。

使用方法

1. 将 50-300 mg 昆虫组织放入 10-15 mL 塑料离心管中，加入 1 mL 昆虫 RNA 纯化溶液 A，然后用匀浆器匀浆 5-20 秒。匀浆时会产生泡沫，但不影响提取效果。也可以使用液氮砚磨法破碎昆虫组织，砚磨完后加入 1 mL 昆虫 RNA 纯化溶液 A。注意：溶解昆虫 RNA 纯化溶液 A 沉淀。昆虫 RNA 纯化溶液 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再取用。
2. 将匀浆物或砚磨物转移至干净的 1.5 mL 塑料离心管中（可以不必转移非液体的细胞碎片）。
3. 在离心管中加入 0.3 mL 的昆虫 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。
4. 室温 12,000×g 离心 3-5 分钟，两相间将有约 5-10 毫米厚的细胞破碎物。
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。最好留下 100 μL 上清液不取。 6. 加入等体积的昆虫 RNA 纯化溶液 C，充分颠倒混匀。 7. 将一半的溶液转移到离心吸附柱中，12,000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。 8. 将剩下的一半溶液转移到同一离心吸附柱中，12,000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。 9. 加 0.7 mL 通用洗柱液，室温 12,000×g 离心半分钟，弃穿透液。 10. 加 0.3 mL 通用洗柱液，室温 12,000×g 离心半分钟，弃穿透液。此步可以省略。 11. 室温 12,000×g 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。 12. 将离心吸附柱转移到 RNase-free 收集管中，加入 50-100 μL RNA 洗脱液，室温放置 1-2 分钟。 13. 12,000×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。 14. 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）。**注意：大部分昆虫的 28S RNA 被切割成两个小的片段，彼此用氢键相连，所以在甲醛变性胶中，没有 28S 带出现（文献见：Eva C. Winnebeck，Craig D. Millar and Guy R. Warman，Why does insect RNA look degraded? Journal of Insect Science: Vol. 10：1-7)** 15. RNA 产量产率测定：将 5-10 μLRNA 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）。 16. 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。
技术资料	**昆虫 rRNA 分类示意图**



关联产品	动物 RNA 纯化试剂盒（过柱法）

20230306zl