天净沙系列

CAT#:920503

常温运输和保存

天净沙

藻类 RNA 提取试剂盒（过柱法）

Algal 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

本产品是专门针对藻类 RNA 提取开发的高效 RNA 提取试剂盒。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十分钟。
2. RNA 纯度更高，OD_{260}/OD_{280} 比值一般都在 2.0 左右，能够有效去除大多数藻类中的多糖污染。
3. 适用于常见的各种海水和淡水藻类的 RNA 提取。
4. 得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、cDNA 合成等实验。
5. 性价比高于进口的柱式藻类 RNA 提取产品。
6. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品用大纸盒包装

成 份	编 号	规格	包装材料
藻类 RNA 提取溶液 A	920503a	50 mL	60 mL 本色瓶
藻类 RNA 提取溶液 B	920503b	15 mL	15 mL 棕玻瓶
藻类 RNA 提取溶液 C	920503c	50 mL	60 mL 本色瓶
氯仿替代品	240760	10 mL	10 mL 棕玻瓶
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	920503sc	1 份	1 份

注：溶液 B 为淡黄色液体，使用前请观察颜色是否正常。若溶液 B 有油粒状颗粒及分层，属正常现象，不影响使用。

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

无。

使用方法

1. 估算组织细胞的用量。每次微量提取一般需要 100-200 mg 藻类（湿重）。注意海水藻类需要用纯净水洗涤 2 次以免藻类沉淀中残留的海水盐分干扰藻类 RNA 提取溶液 A 的作用。
2. 液氮研磨破碎样品：取 100-200 mg 离心得到的新鲜藻类细胞沉淀放入含液氮的研钵中，迅速将其研磨成粉末后，将粉末转移到标记的塑料离心管中，加入 1 mL 藻类 RNA 提取溶液 A，立即剧烈振荡 20 秒，充分混匀。

   注意：藻类 RNA 提取溶液 A 在 4℃放置后容易产生沉淀，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。
3. 将液氮研磨物转移至干净的 1.5 mL 塑料离心管中。

4. 在离心管中加入 0.3 mL 的藻类 RNA 提取溶液 B 和 0.2 mL 自备氯仿或本试剂盒提供的氯仿替代品，在振荡器上振荡 30 秒混匀，此时溶液呈均匀的乳浊状（颜色将根据提取的藻类不同而不同）。振荡器振荡时必须使管底溶液震荡起来。
5. 室温 12,000-15,000×g 离心 3-5 分钟，两相间将有细胞破碎物。
6. 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。
7. 加入等体积的藻类 RNA 提取溶液 C，充分颠倒混匀。如果有沉淀产生（对某些含糖量高的藻类，属于正常现象），千万不要去掉沉淀，一定要把所有的混合物上柱。
8. 先将一半的溶液（如果有沉淀，则将一半的悬浊液）转移到离心吸附柱中，13,000-15,000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。
9. 将剩下的一半溶液转移到同一离心吸附柱中，13,000-15,000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。
10. 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。一般样品如此洗涤两次即可，但如果在第 7 步加入藻类 RNA 提取溶液 C 后有沉淀产生，则需要洗三次，每次加入的通用洗涤液的量改为 0.4、0.3 和 0.3 mL。
11. 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。
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. 13,000-15,000×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。如果电泳发现 DNA 污染严重建议减少起始样本的用量，已经纯化好的 RNA 可另购 RNase-free DNase 去除 DNA 污染。
15. 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 OD_{260} 的 RNA=40 μg/mL），进而计算出 RNA 的产量（浓度×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 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），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	氯仿替代品