

操作手册

真菌/细菌 RNA 提取试剂盒

Catalog No. TR214-50 (50 次反应)

Highlights

- 可在 10 分钟内快速从各种真菌细菌样品中提取到最多 50 μ g 总 RNA。
- 获得的 RNA 产量高、纯度好，可以直接用于酶切、PCR、芯片，高通量测序等分子生物学实验。

Ver.1.0.8

产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次
裂解管	室温	50 个
RNA 裂解液	室温	50 ml
RNA 预洗液	室温	25 ml
RNA 洗涤液	室温	12 ml
DNase I	-20°C	1 管
DNA 消化液	室温	16 ml
RNase-free H ₂ O	室温	5 ml
3 号柱 G	室温	50 个
2 号柱	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	100 个

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

注意事项:

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

特性:

- **样品:** 可有效的从 50-100mg (湿重) 以内的真菌或者细菌中提取到 RNA。等同于大约 10⁹ 细菌细胞或者 10⁸ 酵母细胞。
- **RNA 纯度:** 获得的 RNA 产量高、纯度好, (A260/A280 > 1.8, A260/A230 > 1.8) 可以直接用 PCR, 高通量测序等各种分子生物学实验。回收的 RNA 里可能会有微量的 DNA 残留, 如要完全去除可用 DNase I 采用柱上消化方法。
- **操作时间:** 10 分钟。
- **操作温度:** 室温 (15-30°C)。
- **需要的设备:** 台式离心机, 涡旋仪或者细胞破碎仪。

试剂制备

RNA 洗涤液 添加 48ml100%无水乙醇（或 52ml95%无水乙醇）到 12ml 的 **RNA 洗涤液** 中并做好标记。

操作步骤:

以下离心步骤的离心力均在10,000-16,000 x g下进行，除非特殊说明。

1. 直接添加 **150mg** 以内的样品到裂解管中，然后添加 **800 μ l** 的 RNA 裂解液到裂解管中，在涡旋仪上振荡 **1** 分钟以内，混匀。（如果使用高频振荡器时间可以适当缩短）
2. 将裂解管离心 **1** 分钟。
3. 将上述步骤中 **400 μ l** 上清加到 **3** 号柱 **G** 中，**3** 号柱 **G** 套在一个收集管内，离心 **1** 分钟。**保留滤出液。**
4. 添加等体积的无水乙醇到滤出液中混匀。
5. 将上述混合液添加 **2** 号柱中，**2** 号柱套在一个收集管内，离心 **1** 分钟。去除滤出液。
6. 添加 **400 μ l** RNA 预洗液到 **2** 号柱中，离心 **1** 分钟。去除滤出液。
7. 添加 **700 μ l** RNA 洗涤液到 **2** 号柱中，离心 **1** 分钟。去除滤出液。
8. 添加 **400 μ l** RNA 洗涤液到 **2** 号柱中，离心 **2** 分钟。去除滤出液。
9. 将 **2** 号柱移至干净的 **1.5ml** 离心管中直接添加 **50 μ l** 的 **RNase-free H₂O** 到柱基质上，室温下放置 **2-5** 分钟，离心 **1** 分钟来洗脱 RNA。

DNase I 柱上消化步骤: (DNaseI为选配组件)

在处理完第5步之后

a) 添加**400 μ l**的RNA洗涤液到**2**号柱子里，离心**1**分钟。去除滤出液。

b)对于每一次的样品处理需要制备**80 μ l**的DNase I反应液。配比为 DNase I **5 μ l** DNA消化液 **75 μ l**

c)直接添加**80 μ l**的DNase I反应液到**2**号柱上，在室温下（**20-30 $^{\circ}$ C**）孵育**15**分钟。

从第**6**步开始继续操作。