



# Fungal RNA Kit

## 真菌 RNA 提取试剂盒

### 产品简介

GBCBIO公司的Fungal RNA Kit可以快速简便地从广泛的真菌中提取到高质量的细胞总RNA。最多100mg 湿的组织可以在1小时内处理完毕。可以有效的去除组织裂解物种的多糖，酚类，以及酶抑制物。可以同时进行多个样品的处理。

### 试剂盒组成

产品编号	R6101	R6105	R6106	R6107
次数	5	50	100	200
纯化柱子	5	50	100	200
收集管	5	50	100	200
Buffer FR	2ml	24ml	48ml	88ml
Buffer PP	1ml	10ml	30ml	55ml
RNA Wash Buffer I	3ml	33ml	55ml	110ml
RNA Wash Buffer II	2ml	13ml	26ml	26ml*2
DEPC-Water	1ml	13ml	20ml	30ml
说明书	1	1	1	1

### 储存和稳定性

Fungal RNA Kit在购买后可保存至少12个月；所有组分储于室温（22-25℃）。Buffer FR加入巯基乙醇后请于4℃保存,有效期为6个月。

### 预防RNase 污染，应注意以下几方面：

- 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致RNase污染。
- 使用无RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染。
- RNA 在RNAplus-巯基乙醇中时不会被RNase 降解。但提取后继续处理过程中应使用不含RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在1500C烘烤4 小时，塑料器皿可在0.5 M NaOH 中浸泡10 分钟，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除RNase。
- 配制溶液应使用RNase-free ddH2O。（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC 至终浓度0.1%(v/v)，混匀后放置过夜，高压灭菌）。

### 浓缩的RNA Wash Buffer需用无水乙醇按如下稀释：

- R6101 加8 ml；R6105加入52 ml ；R6106与R6107每瓶加入104 ml 无水乙醇

### Buffer FR使用前必须加入巯基乙醇

- R6101加入0.5ml;R5605加入6ml；R6106加入12ml;R6107加入22ml.

### 操作步骤

1.液氮研磨样本，取小于100mg样品置于RNase-free的离心管中，加入0.5ml Buffer FR，振荡彻底混匀。

*注意：Buffer FR使用前须按要求加入巯基乙醇。*

2.室温12,000×g下离心2min,转移上清至新的RNase-free的1.5ml离心管中。

3. 加入100µl Buffer PP,再加入300µl氯仿，剧烈混匀后室温下，12,000×g下离心3min。

4.小心地转移不多于80%上层水相至一新的离心管中。加入等倍体积的70%乙醇（如400µl水相，加入400µl 70%乙醇），颠倒混匀。

*注意：70%乙醇，需要DEPC水配制，用户自备。*

5.把GBC吸附柱装在在2ml收集管中（已提供），将第6步得到的溶液全部转入柱中，10,000×g离心1min，倒弃流出液重新套上收集管。

6.加入500µl RNA Wash Buffer I至柱子中，10,000×g离心1min,倒弃流出液；

7.加入600µl RNA Wash Buffer II至柱子中，10,000×g离心1min,倒弃流出液；

*注意：RNA Wash Buffer II使用前须按要求用无水乙醇稀释。如果放入冰箱中，使用前须恢复到室温。*

8.再加入600µl RNA Wash Buffer II至柱子中，10,000×g离心1min,弃去流出液；

9. 将GBC吸附柱重新套回2ml收集管中，最大转速（>13,000×g）离心空结合柱1min以干燥柱子的基质；这一步对下面的洗脱步骤至关重要。

10. 将GBC吸附柱转入一个新的离心管中，加30-100µl DEPC-Water，室温放置1 分钟，12,000 rpm (~13,400×g)离心30秒。洗脱缓冲液体积不应少于30µl，体积过小影响回收效率。且RNA 应保存在-70℃，以防降解。

## 可能出现的问题与对策

问 题	原 因	建 议
纯化柱阻塞	裂解不完全	确保样品充分研磨，加入 Buffer FR 后确保充分混匀。
	转移上清时，吸附到沉淀	减少样本量，转移上清时，绝不能吸附到沉淀。
低 RNA 量	柱子阻塞	见上述。
	洗脱液不足	洗脱时所加 DEPC-Water 不能少于 30 $\mu$ l，加入洗脱液后室温放置 2min。
	洗涤不恰当	RNA Wash Buffer II 在使用前用无水乙醇按指示稀释。
RNA 降解	样品本身有问题	样品保存时间过长，使用新鲜样品。
	RNA 酶污染	确保在各操作中防护 RNA 酶污染。防止溶液系统交叉污染。
DNA 污染	本试剂盒没有专门的 DNA 除去步骤	要完全除去 DNA 污染，后续应用建议用 DNase I 处理，或者选择我司的 DNase I 膜上处理系统。
低吸光值	用 DEPC-Water 洗脱所致	DEPC-Water 会影响吸光值的测定，用 TE 或者去离子水洗脱或稀释进行测定

## 可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G3422	DAB 染色液	100ml
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2
G3424	RIPA 裂解液	100ml
P0018	ECL 发光液	100ml
G3418	TMB Solution For Blotting	100ml
G4308	TMB solution For Elisa	100ml
G3005	30%丙烯酰胺 (29:1)	500ml
G3403	40%丙烯酰胺 (37.5:1)	500ml
G0528	4%多聚甲醛	500ml
G3422	BCA 蛋白浓度测定试剂盒	500T
G3155	Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	1000T
G4256	10X 丽春红染色液	10ml

广州捷信斯生物科技有限公司

地址：广州市国际生物岛螺旋四路一号研发B区403

电话：020-82160415 Email: genebase@vip.163.com WEB:www.gbcbio.cn