

广谱型植物总 RNA 提取试剂盒

货号: NG312S 50 次

NG312M 100 次

本品室温储存 12 个月不影响使用效果。

试剂盒组成	保存	50 次	100 次
裂解液 PB	室温	50ml	100 ml
漂洗液 RE	室温	25 ml	50ml
漂洗液 RW	室温	10 ml	25 ml
70%乙醇	室温	9ml RNase-free H ₂ O	18ml RNase-free H ₂ O
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml	20 ml
吸附柱 RA/收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个
RNase-free 过滤柱/收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个

产品介绍:

本品为我司自主研发的独特产品, 其原理完全不同于异硫氰酸胍/酚/氯仿提取方法, 能高效将 RNA 和其他植物多糖分开, 同时还能有效去除多酚和其他植物次级代谢成份, 适合于绝大部分用植物样本(根茎叶果实), 并在近百余种各类植物(包括十分棘手的松柏类植物)中得到验证。本产品还可以用于部分真菌类样品总 RNA 的提取。

注意事项:

1. 为防止RNA降解, 所有离心步骤如未加说明, 均在4°C低温进行。使用转速可以达到13, 000 rpm的传统台式离心机, 如Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
2. 裂解液 PB 和漂洗液 RE 中含有刺激性有害化合物, 操作时要戴乳胶手套, **避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 要用大量清水或者生理盐水冲洗。**
3. 预防 RNase 污染, 所有操作必须在无 RNA 酶环境下操作以及耗材等
4. 常规的琼脂糖凝胶电泳和变性胶电泳均可以用来分析 RNA 的质量。好的 RNA 产物在电泳后应该可以看到明显的二条优势核糖体 RNA 带, 分别为~5Kb (28S), ~2Kb (18S), 条带亮度比值约为 2: 1。有时候看到~0.1kb 和 0.3Kb(5S, tRNA)带。但有时候根据不同的物种如某些植物组织可以看到 4, 5 条带也属于正常现象, 如果 RNA 未成熟的前体或者不均一核 RNA、小核 RNA 提取出来也可能看到介于 7Kb 和 15Kb 之间的不连续的高分子量条带。

操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

⇨ 操作一

⇨ **提示:** 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶和 70%乙醇瓶中加入指定量无水乙醇! 事先将裂解液 PB 65°C 预热。

1. 匀浆处理

取100mg植物组织于液氮中研磨, 时间要短, 要保持研钵中有液氮(如果没有液氮也可以直接加1ml的裂解液PB后匀浆。组织样品容积不能超过PB容积的10%)。

2. 转移样品至 1.5ml RNase free 离心管中, 加入 1ml 的裂解液 PB 颠倒混匀, 在 65°C 条件下孵育 5 分钟以使核蛋白体完全分解。

3. 室温条件下 12,000rpm 离心 10 分钟, 小心取上清转入一个新的 RNase free 过滤柱中(若上清表面有漂浮物, 用枪

头跳开吸取下面液体即可)。

4. 12,000rpm 离心 45 秒。收集下滤液(含有总 RNA)于收集管中, 进行下一步操作。
5. 在收集管中加入 1 倍体积 70%乙醇 (**请先检查是否已加入无水乙醇!**), 上下颠倒混匀 7-8 次(此时可能会出现沉淀)。得到的溶液和可能沉淀一起转入吸附柱 RA 中(溶液太多可分次过柱, 吸附柱最多可以放 750 μ l 溶液, 吸附柱套在收集管内)。
6. 10,000rpm 离心 45 秒, 弃掉废液, 将吸附柱重新套回收集管。
7. 加入 500 μ l 漂洗液 RE, 室温放置 2 分钟, 12,000rpm 离心 45 秒, 弃掉废液。
8. 加入 500 μ l 漂洗液 RW (**请先检查是否已加入无水乙醇!**), 12,000 rpm 离心 60 秒, 弃掉废液。

重复步骤 8,

9. 将吸附柱 RA 放回空收集管中, 12,000 rpm 离心 2 分钟, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 取出吸附柱 RA, 放入一个 RNase-free 离心管中, 根据预期 RNA 产量**在吸附膜的中间部位**加 50-80 μ l RNase-free H₂O (事先在 65-70°C 水浴中加热效果更好), 室温放置 2 分钟, 12,000rpm 离心 1 分钟。如果需要较多 RNA, 可将得到的溶液重新加入吸附柱中, 离心 1 分钟, 或者另外再加 30 μ l RNase-free H₂O, 离心 1 分钟, 合并两次洗脱液。

操作二

可选步骤 (一般不需要, 实验要求高可选): DNA 酶消化 DNA 环节

接第六步, 将吸附柱 RA 放回空收集管中, 12,000 rpm 离心 2 分钟,

自备: 加入已配置好的消化液 30 μ l 于吸附膜的中间部位, 37°C 保温 15-30 分钟。

消化液的配置比例: RNase-Free DNase 2 μ l, DNase 10 \times Reaction Buffer 3 μ l, RNase-Free Water 25 μ l;

RNase-Free DNase 的用量可根据 DNA 量多少来调节, 1 μ l RNase-Free DNase 可以消化 1 μ g 的 DNA,

10 \times Reaction Buffer 的量按照比例增减。

7. 加入 500 μ l 漂洗液 RE, 室温放置 2 分钟, 12,000rpm 离心 45 秒, 弃掉废液。
8. 加入 500 μ l 漂洗液 RW (请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 60 秒, 弃掉废液。
9. 重复步骤 8。
10. 将吸附柱 RA 放回空收集管中, 12,000 rpm 离心 2 分钟, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
- 取出吸附柱 RA, 放入一个 RNase-free 离心管中, 根据预期 RNA 产量**在吸附膜的中间部位**加 50-80 μ l RNase-free H₂O (事先在 65-70°C 水浴中加热效果更好), 室温放置 2 分钟, 12,000rpm 离心 1 分钟。如果需要较多 RNA, 可将得到的溶液重新加入吸附柱中, 离心 1 分钟, 或者另外再加 30 μ l RNase-free H₂O, 离心 1 分钟, 合并两次洗脱液。

洗脱体积越大, 洗脱效率越高, 如果需要 RNA 浓度较高, 可以适当减少洗脱体积。最小体积最好不少于 30 μ l, 体积过小降低 RNA 洗脱效率, 减少 RNA 产量。