

EASYspin 植物 RNA 快速提取试剂盒

EASYspin RNA Rapid Plant Kit



产品信息：

试剂盒组成	保存	RA106-01	RA106-02
		20 次	50 次
裂解液 RLT	室温	20 ml	50 ml
去蛋白液 RW1	室温	15 ml	40 ml
漂洗液 RW	室温	5 ml	10 ml
		第一次使用前加入 4 倍体积无水乙醇	
DNase I	-20℃	200 μl	500 μl
缓冲液 RDD	-20℃	1 ml×2	1 ml×4
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml	10 ml
PLANTaid	室温运输 4℃保存	2 ml	5 ml
RNase-free 吸附柱 RA	室温	20 个	50 个
收集管	室温	20 个	50 个
RNase-free 离心管 (1.5 ml)	室温	20 个	50 个

保存条件：

本产品收到后按照上面指示温度存放各成份，储存 12 个月不影响使用效果。

产品介绍：

独特的裂解液/ β -巯基乙醇迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶，植物 RNA 助提剂 PLANTaid 帮助结合多糖多酚并通过离心去除，然后用乙醇调节结合条件后，RNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物，蛋白等杂质去除，最后低盐的 RNase free H₂O 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。

自备试剂：乙醇， β -巯基乙醇

注意事项：

- 1.需要自备一次性注射器（可选），研钵。
- 2.裂解液RLT和去蛋白液RW1中含有刺激性化合物，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.关于DNA的微量残留:

由于采取了本公司独特的缓冲体系和选择了特殊吸附能力的吸附膜，在大多数 RT-PCR 扩增过程中极其微量的 DNA 残留（一般电泳 EB 染色紫外灯下观察不可见）影响不是很大，如果要进行严格的 mRNA 表达量分析如荧光定量 PCR，我们建议在 进行模板和引物的选择时：

- 1) 选用跨内含子的引物，以穿过mRNA中的连接区，这样DNA就不能作为模板参与扩增反应。
- 2) 选择基因组DNA和cDNA上扩增的产物大小不一样的引物对。

操作步骤:

- ⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶加入指定量无水乙醇!
- ⇒ 操作前在裂解液 RLT 中加入 β -巯基乙醇至终浓度 1%，如 1 ml RLT 中加入 10 μ l β -巯基乙醇。此裂解液最好现用现配。配好的 RLT 4 $^{\circ}$ C 可放置一个月。

1.直接研磨法（推荐）:

- a.新鲜植物组织称重后取 100 mg 迅速剪成小块放入研钵（冰冻保存或者液氮保存样品可直接称重后取 100 mg 放入研钵），加入 **10 体积（1 ml）RLT**(请确定已加入 β -巯基乙醇)和 **1 体积（100 μ l）PLANTaid** 室温下**充分研磨成匀浆**，注意应该迅速研磨让组织和裂解液 RLT 立刻充分接触以抑制 RNA 酶活性。
- b.将裂解物转入离心管，剧烈摇晃振荡 15 sec，12,000 rpm 离心 5-10 min，沉淀为不能裂解的碎片和结合有多糖多酚的 PLANTaid，取 **450 μ l 裂解物上清**转到一个新离心管。
- c.加入上清体积一半的无水乙醇（**0.5 体积**），此时可能出现沉淀，但是不影响提取过程，立即吹打混匀，不要离心。
- d.立刻接**操作步骤**项下 3。

2.液氮研磨法:

- a.取 500 μ l 裂解液 RLT(已经加入 β -巯基乙醇)，转入 1.5 ml 离心管中，加入 50 μ l PLANTaid 混匀备用。
- b.液氮中研磨适量植物组织成细粉后，取 50mg 细粉转入上述装有 RLT 和 PLANTaid 的离心管，立即用手剧烈振荡 20 sec，充分裂解。
在 56 $^{\circ}$ C 温育 1-3 min 有助于裂解植物,但是淀粉含量高的植物不能温育，因为提高的温度可能导致淀粉膨胀。
- c.用带钝针头的一次性 1 ml（配 0.9 mm 针头）注射器抽打裂解物 10 次或直到得到满意匀浆结果（或者电动匀浆 30 sec），可以剪切 DNA，降低粘稠度和提高产量。
- d.将裂解物 13,000 rpm 离心 5-10 min，沉淀为不能裂解的碎片和结合有多糖多酚的

PLANTaid, 将所有裂解物上清转到一个新离心管。

e.较精确估计裂解物（上清）体积，加入 **0.5 体积** 的无水乙醇，此时可能出现沉淀，但是不影响提取过程，立即吹打混匀，不要离心。

f.立刻接**操作步骤**项下 3。

- 3.将混合物（每次小于 700 μ l，多可以分两次加入）加入一个吸附柱 RA 中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm 离心 60 sec，弃掉废液。
- 4.加 350 μ l 去蛋白液 RW1，室温放置 30 sec，12,000 rpm 离心 30 sec，弃掉废液。将吸附柱 RA 放回收集管中。
- 5.DNase I 工作液的配制：取 10 μ l DNase I 储存液放入新的 RNase-free 离心管中，加入 70 μ l RDD 溶液，轻柔混匀。
- 6.向吸附柱 RA 中央加入 80 μ l DNase I 工作液，室温放置 15 min（一般情况下室温放置可得到较好的消化效果，如果室温效果不佳可选择在 37 $^{\circ}$ C 放置 15 min）。
- 7.加 350 μ l 去蛋白液 RW1，室温放置 30 sec，12,000 rpm 离心 30 sec，弃掉废液。将吸附柱 RA 放回收集管中。
- 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 30 sec，弃掉废液。加入 500 μ l 漂洗液 RW，重复一遍。
- 9.将吸附柱 RA 放回空收集管中，12,000 rpm 离心 2 min，将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
- 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 30-50 μ l RNase free water（事先在 70-80 $^{\circ}$ C 水浴中加热效果更好），室温放置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min。
- 11.如果预期 RNA 产量>30 μ g，加 30-50 μ l RNase free H₂O 重复步骤 10，合并两次洗脱液，或者使用第一次的洗脱液加回到吸附柱重复步骤一遍（如果需要 RNA 浓度高）。**洗脱两遍的 RNA 洗脱液浓度高，分两次洗脱合并洗脱液的 RNA 产量比前者高 15-30%，但是浓度要低，用户根据需要选择。**

对于 RNA 含量少（ $\leq 5 \mu$ g）的样品，可以选择购买本公司微量 RNA 吸附柱（货号：QA3101），此吸附柱最小洗脱体积为 5 μ l，可提高 RNA 的洗脱浓度，帮助后续实验的进行。

BM190625