

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	20ml	50ml
去蛋白液 RW1	室温	15ml	40ml
漂洗液 RW	室温	5ml	10ml
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
DNaseI	-20℃	200µl	500µl
缓冲液 RDD	-20℃	1ml×2	1ml×4
RNase-free H ₂ O	室温	10ml	10ml
PLANTaid	室温运输	2ml	5ml
	4℃保存		
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 1.5ml	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 在高离子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 100mg 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 100mg 放入研钵),加入 **10 体积(1ml)** 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, 12,000rpm 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 1.5ml 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 0.9mm 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 13,000rpm 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 700μl,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) 12,000rpm 离心 60 sec, 弃掉废液。
 - 4.加 350μl 去蛋白液 RW1, 室温放置 30 sec, 12,000rpm 离心 30 sec, 弃掉废液。将吸附柱 RA 放回收集管中。
 - 5.DNaseI 工作液的配制: 取 10μl DNaseI 储存液放入新的 RNase-free 离心管中, 加入 70μl RDD 溶液, 轻柔混匀。
 - 6.向吸附柱 RA 中央加入 80μl DNaseI 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℃放置 15min)。
 - 7.加 350μl 去蛋白液 RW1, 室温放置 30 sec, 12,000rpm 离心 30 sec, 弃掉废液。将吸附柱 RA 放回收集管中。
 - 8.加入 500μl 漂洗液 RW (**请先检查是否已加入无水乙醇!**), 12,000rpm 离心 30 sec, 弃掉废液。加入 500μl 漂洗液 RW,重复一遍。
 - 9.将吸附柱 RA 放回空收集管中, 12,000rpm 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 30-50μl RNase free water (事先在 70-80℃水浴中加热效果更好), 室温放置 1 min, 12,000rpm 离心 1 min。
 - 11.如果预期 RNA 产量>30μg,加 30-50μl RNase free water 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。**