

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-XT	-20℃	200 µl	500 µl
缓冲液 RDD	-20℃	1 ml×2	1 ml×4
H ₂ O(RNase-free)	室温	10 ml	10 ml
PLANTaid	室温运输	2 ml	5 ml
	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 (1.5 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 18 个月不影响使用效果。

产品介绍:

独特的裂解液迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶，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，通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，将细胞代谢物，蛋白等杂质去除，最后低盐的 H₂O(RNase free) 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。

自备试剂: 乙醇

注意事项:

1. 需要自备研钵。
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!

1.液氮研磨法:

- a.取 500 μ l 裂解液 RLT, 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 或涡旋振荡混匀,充分裂解。
在 56℃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.将裂解物 13,000 rpm 离心 2-5 min, 将上清转到一个新离心管。沉淀为不能裂解的碎片和结合有多糖多酚的 PLANTaid。
- d.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。
- e.立刻接**操作步骤**项下 3。

2.均质仪处理:

- a.取 500 μ l 裂解液 RLT, 加入 50 μ l PLANTaid 混匀备用。
 - b.取 30-100 mg 植物叶片加入到含研磨珠的研磨管(客户自备)中,液氮速冻,使用组织研磨低温均质仪(客户自备)均质处理,加入上述装有 RLT 和 PLANTaid 的裂解液,立即涡旋剧烈振荡混匀。
 - c.12,000 rpm 离心 2-5 min, 取上清转到一个新离心管。沉淀为不能裂解的碎片和结合有多糖多酚的 PLANTaid。
 - d.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。
 - e.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-XT 工作液的配制: 取 10 μ l DNase I-XT 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-XT 工作液, 室温放置 5 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 H₂O(RNase-free) (事先在 70-80°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 H₂O(RNase-free)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。
- 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。洗脱两遍的 RNA 洗脱液浓度高。用户根据需要选择。**