

通用植物总 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℃低温进行。使用转速可以达到12,000 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。
5. 需要自备β-巯基乙醇，乙醇，研钵(可选)。

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!

匀浆处理

- ⇨ 1.取 1ml 裂解液 PB 至离心管内(如果 PB 有析出或者沉淀需先置于 65℃ 水浴重新溶解)，在裂解液 PB 中加入 5% β-巯基乙醇 (1mlPB 加 50μl β-巯基乙醇)。颠倒混匀后 65℃ 水浴中预热。多个样品按照比例放大准备。**β-巯基乙醇是裂解液 PB 的关键成分，必要的时候可以提终浓度到 10-20%。如果特别复杂植物，可以尝试在裂解液中加入 PVP40 至终浓度 2%。**

2. 液氮中研磨新鲜或-70°C 冷冻的材料至细粉。
3. 转移 100mg-200mg 细粉（水分少的样品如叶片种子等可加 100mg-150mg，水分多的样品如草莓西瓜果实可多加一些）加至预热的 1ml 裂解液 PB（1mlPB 加 50 μ l β -巯基乙醇）离心管中。立即剧烈涡旋 30-60 秒或者用吸头吹打混匀裂解直得到满意匀浆结果(或者电动匀浆 30 秒)，短时放回 65°C 水浴中（5-10 min），中间偶尔颠倒 1-2 次帮助裂解。
4. 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)。
5. 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。
6. 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。
注：（溶液太多可分次过柱，吸附柱套在收集管内,吸附柱最多可以放 750 μ l 溶液，预计溶液量约 1.8ml 左右，前两次每次 8000rpm 离心 15 秒，）。
7. 再次 10,000rpm 离心 45 秒，弃掉废液，将吸附柱重新套回收集管。
8. 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。
9. 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 9，
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。
11. 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。