

版本号: DP210831

RNA Easy Fast Plant Tissue Kit

RNA Easy Fast植物组织RNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP452

产品内容

| 产品组成 | DP452 (50 preps) |
|------------------------------------------------------------------|---------------------|
| 裂解液SG (Buffer SG) | 40 ml |
| 去蛋白液RW3 (Buffer RW3) | 40 ml |
| 漂洗液RW (Buffer RW) | 12 ml |
| 蛋白酶K (Proteinase K) | 500 μ l |
| 无RNA酶双蒸水 (RNase-Free ddH ₂ O) | 15 ml |
| 基因组DNA去除柱 (含2 ml收集管) (gDNA Eraser Column set) | 50 套 |
| RNase-Free吸附柱CR4 (含2 ml收集管) (RNase-Free Column CR4 set) | 50 套 |
| RNase-Free离心管 (1.5 ml) (RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 ml)) | 50 个 |

选配试剂

DNase I(1500 U) (TIANGEN, 目录号: RT411)

储存条件

试剂盒在室温 (15-30°C) 保存, 可保存15个月。选配的RNase-Free DNase I请置于2-8°C保存, 可保存一年。

产品简介

本产品是基于天根研发的基因组DNA去除技术而开发的植物组织RNA快速提取试剂盒，不用 β -巯基乙醇或DTT等有毒试剂，30 min之内就可完成RNA的提取。不仅适用于小麦、玉米等普通植物叶片样本，同样也适用于多糖多酚类的样品（如海棠叶片、棉花叶片、菊花叶片、木槿花、马铃薯块茎、西瓜、黄瓜、松针等）。本产品提取的总RNA得率高、纯度高、基本没有蛋白和其它杂质的污染，可用于RT-PCR、Real Time RT-PCR、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、PolyA 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆等多种下游实验。

预防RNase污染，应注意以下几方面

1. 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致RNase污染。
2. 使用无RNase的塑料制品和枪头避免交叉污染。
3. RNA在裂解液SG中时不会被RNase降解。但提取后继续处理过程中应使用不含RNase的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在150℃烘烤4 h，塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10 min，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除RNase。
4. 配制溶液应使用RNase-Free ddH₂O。（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC至终浓度0.1% (v/v)，混匀后放置过夜，高压灭菌。）

使用注意事项

1. 若后续实验对RNA纯度要求比较严格，可以选择性的进行DNase I消化，参见步骤6，DNase I需自行购买，具体型号参见选配试剂。
 2. 第一次使用前应在漂洗液 RW中加入无水乙醇，加入量请参见瓶上标签。
 3. 以下操作如非指明，均在室温下进行。
-

操作步骤

使用前请先确认漂洗液RW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上标签。

1、样本前处理

将植物叶片或果实果肉在液氮中迅速研磨成粉末，取30-150 mg样本加入600 μ l 裂解液SG和10 μ l Proteinase K，立即涡旋剧烈震荡混匀，混匀后室温放置5 min。

注意：叶片类的样本尽量取幼嫩的部分，建议上样量60 mg；果实、块茎、花瓣类样本，建议上样量150 mg；红豆等干的种子类样本，建议上样量30 mg，因为吸水，裂解液增加到1 ml体积。

2、12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心2 min，取约500 μ l上清进行以下操作。

注意：枪头尽量不要触碰到沉淀底部，以免吸到杂质。

3、将得到的上清加入基因组DNA去除柱中，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，保留滤液。

4、向上述滤液中缓慢加入0.5倍上清体积的无水乙醇（约250 μ l体积），混匀（此时可能会出现沉淀），得到的溶液和沉淀一起转入RNase-Free吸附柱CR4中（吸附柱放在收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，弃掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

5、如果不进行DNase I消化，向RNase-Free吸附柱CR4中加入700 μ l去蛋白液RW3，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

6、DNase I 消化（可选）：若后续实验对RNA纯度要求比较严格，可以选择性的进行DNase I 消化。

1) 向RNase-Free吸附柱CR4中加入350 μ l去蛋白液RW3，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

2) DNase I反应液的配制：

将DNase I干粉（1500 U）溶解在550 μ l RNase-Free ddH₂O中，轻柔混匀，分装后-30~-15 $^{\circ}$ C贮存（可保存9个月）。

注意：从-30~-15 $^{\circ}$ C融化后的DNase I储存液保存于2-8 $^{\circ}$ C（可保存6周），不要再次冻存。

3) 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。

4) 向RNase-Free吸附柱CR4中央加入80 μ l的DNase I 工作液，室温放置15 min。

5) 向RNase-Free吸附柱CR4中加入350 μ l去蛋白液RW3，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

心30 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

7. 向RNase-Free吸附柱CR4中加入500 μ l漂洗液RW（使用前请先检查是否已加入乙醇），室温静置2 min，12,000 rpm (\sim 13,400 \times g) 离心30-60 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
8. 重复步骤7。
9. 12,000 rpm (\sim 13,400 \times g) 离心2 min，倒掉废液。将RNase-Free吸附柱CR4置于室温放置2 min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：此步骤目的是将RNase-Free吸附柱CR4中残余的漂洗液去除，漂洗液的残留，可能会影响后续的RT等实验。

10. 将RNase-Free吸附柱CR4转入一个新的RNase-Free离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加30-100 μ l RNase-Free ddH₂O，室温放置2 min，12,000 rpm (\sim 13,400 \times g) 离心2 min，得到RNA溶液。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于30 μ l，体积过小影响回收效率。RNA溶液请于-70 $^{\circ}$ C保存。