

版本号: DP240605

RNAPrep Pure Plant Kit

RNAPrep Pure植物总RNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP432

产品内容

产品组成		DP432 (50 preps)
DP 432	裂解液RL (Buffer RL)	30 ml
	去蛋白液RW1 (Buffer RW1)	40 ml
	漂洗液RW (Buffer RW)	12 ml
	无RNA酶双蒸水 (RNase-Free ddH ₂ O)	15 ml
	RNase-Free吸附柱CR3 (含2 ml收集管) (RNase-Free Columns CR3 set)	50 套
	RNase-Free过滤柱CS (含2 ml收集管) (RNase-Free Columns CS set)	50 套
	RNase-Free离心管 (1.5 ml) (RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 ml))	50 个
RT411	RNase-Free DNase I (1500 U)	1 支
	RDD缓冲液 (DNA消化缓冲液) (Buffer RDD (DNA Digest Buffer))	4 ml
	无RNA酶双蒸水 (RNase-Free ddH ₂ O)	1 ml

备注: DP 432和RT411组分独立运输和分装。

储存条件

RNase-Free DNase I和RDD缓冲液置于2-8℃保存, 可保存15个月; 其他试剂室温(15-30℃)保存, 可保存15个月。加入β-巯基乙醇的裂解液RL 2-8℃可放置一个月。

产品简介

本试剂盒可从植物组织中快速提取总RNA，可同时处理大量不同样品。提取的总RNA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RL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）。

RNA得率

植物叶片 (100 mg)	总RNA量 (μg)
拟南芥	~35
玉米	~25
西红柿	~65
烟草	~60

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 操作前在裂解液RL中加入β-巯基乙醇至终浓度1%，如1 ml裂解液RL中加入10 μl β-巯基乙醇。此裂解液最好现用现配。配好的裂解液RL 2-8℃可放置一个月，裂解液RL在储存时可能会形成沉淀，如果有沉淀出现，请加热溶解后使用。
2. 植物组织裂解是否充分直接影响到RNA提取的质量和产量，本试剂盒中提供的裂解液RL，主要成分为异硫氰酸胍，适用于大多数植物组织的裂解，但有些植物组织 (例如玉米的乳白色胚乳) 或丝状真菌，由于次级代谢产物较特殊，异硫氰酸胍使样品产生沉淀，导致RNA提取效果不佳的现象，此时可以向TIANGEN公司免费索取另一种裂解液HL，将解决该问题。
3. 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。
4. 以下操作如非指明，均在室温下进行。

DNase I储存液的配制

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°C贮存 (可保存9个月)。

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

操作步骤

第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在漂洗液RW中加入无水乙醇，在裂解液RL中加入 β -巯基乙醇! 所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1. 匀浆处理

50-100 mg植物叶片在液氮中迅速研磨成粉末，加入450 μ l裂解液RL (使用前请先检查是否已加入 β -巯基乙醇)，涡旋剧烈震荡混匀。

注意1：在56°C孵育1-3 min将有助于植物组织裂解，但是对于某些富含淀粉的样品，请不要加热处理，防止因淀粉引起的样品膨胀现象。

注意2：由于植物多样性非常丰富，而且同种植物的不同生长发育阶段和不同组织的RNA含量都不相同，请根据具体实验情况选择合适的植物材料的用量。

2. 将所有溶液转移至过滤柱CS上 (过滤柱CS放在收集管中)，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心2-5 min，小心吸取收集管中的上清至RNase-Free的离心管中，吸头尽量避免接触收集管中的细胞碎片沉淀。

注意：由于裂解液较粘稠，所以将溶液转移至过滤柱时，可以剪去部分吸头末端。

3. 缓慢加入0.5倍上清体积的无水乙醇 (通常为225 μ l)，混匀 (此时可能会出现沉淀)，将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱CR3中，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CR3放回收集管中。

注意：如果上清液体积有损失，请相应调整乙醇的加量。

4. 向吸附柱CR3中加入350 μ l去蛋白液RW1，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CR3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缓冲液，轻柔混匀。
6. 向吸附柱CR3中央加入80 μ l的DNase I 工作液，室温放置15 min。
7. 向吸附柱CR3中加入350 μ l去蛋白液RW1，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CR3放回收集管中。
-

8. 向吸附柱CR3中加入500 μl 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, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱CR3放回收集管中。

9. 重复步骤8。

10. 12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心2 min, 倒掉废液。将吸附柱CR3置于室温放置2-5 min, 以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：此步骤目的是将吸附柱CR3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。

11. 将吸附柱CR3放入一个新的RNase-Free离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加30-100 μl 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 μl , 体积过小影响回收效率。RNA样品请在-70 $^{\circ}\text{C}$ 中保存。

RNA纯度及浓度检测

完整性： RNA可用普通琼脂糖凝胶电泳 (电泳条件：胶浓度1.2%；0.5 $\times$ TBE电泳缓冲液；150 V, 15 min) 检测完整性。由于细胞中70%-80%的RNA为rRNA, 电泳后UV下应能看到非常明显的rRNA条带。rRNA大小分别约为5 kb和2 kb, 分别相当于28S和18S rRNA；植物叶片中由于含有大量的叶绿体RNA, 可见4条或更多rRNA。植物RNA样品中最大rRNA亮度应为次大rRNA亮度的1.5-2.0倍, 否则表示RNA样品的降解。出现弥散片状或条带消失表明样品严重降解。

纯度： OD₂₆₀/OD₂₈₀比值是衡量蛋白质污染程度的指标。高质量的RNA, OD₂₆₀/OD₂₈₀读数在1.8-2.1之间, 比值为2.0是高质量RNA的标志。OD₂₆₀/OD₂₈₀读数受测定所用溶液的pH值影响。同一个RNA样品, 假定在10 mM Tris, pH7.5溶液中测出的OD₂₆₀/OD₂₈₀读数1.8-2.1之间, 在水溶液中所测读数则可能在1.5-1.9之间, 但这并不表示RNA不纯。

浓度： 取一定量的RNA提取物, 用RNase-Free ddH₂O稀释n倍, 用RNase-Free ddH₂O将分光光度计调零, 取稀释液进行OD₂₆₀和OD₂₈₀测定, 按照以下公式进行RNA浓度的计算：

$$\text{终浓度 (ng/}\mu\text{l)} = (\text{OD}_{260}) \times (\text{稀释倍数}n) \times 40$$



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

坚持“CUSTOMER FIRST”理念 秉承“质量为天，服务为根”宗旨！

TIANGEN为您提供从样本处理，
核酸纯化到下游检测的整体解决方案

科研试剂

- 样本保护与处理
- 磁珠法外泌体系列
- 基因组 DNA 提取
- 质粒提取
- 总 RNA 提取
- DNA 产物纯化 / 胶回收
- PCR 系列
- NGS 文库制备
- 表观遗传学
- RT-PCR 系列
- 荧光定量 PCR 系列
- 克隆和点突变
- DNA 分子量标准
- 蛋白表达和检测

科研解决方案

- 快速分子克隆整体解决方案
- 基因表达分析快速解决方案
- 环境微生物解决方案
- 复杂样本 RNA 解决方案