

通用型植物总 RNA 提取试剂盒

RNAprep Plant Kit

目录号: GR4021 GR4022

试剂盒组成	50 次 (GR4021)	100 次 (GR4022)
裂解液 GRL	30ml	60 ml
去蛋白液 RPW1	25ml	50ml
RNA 结合液	15ml	30ml
漂洗液 RPW2	20ml×2	20ml×3
DNase I Reaction Buffer	2.5ml	5ml
RNase-free DNase I	750ul	1.5ml
RNase-free Water	5ml	10ml
RNase-free DNA 清除柱	50 套	100 套
RNase-free RNA 结合柱	50 套	100 套

试剂盒储存、稳定性:

本试剂盒在室温储存18个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 不合适的储存于低温（4℃或者-20℃）会造成溶液沉淀，因此运输和储存均在室温下进行。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

产品介绍:

独特的裂解液迅速裂解细胞同时灭活细胞 RNA 酶，DNA 清除柱能够有效清除基因组 DNA，然后用乙醇调节结合条件后，RNA 在高离序盐状态下 选择性吸附于离心柱内硅基质

膜再通过快速的漂洗步骤, 去除蛋白和细胞代谢物等杂质, 最后低盐的RNase free H2O 将纯净RNA 从硅基质膜上洗脱。

产品特点:

1. 完全不使用有毒的苯酚, 氯仿等试剂, 也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 简捷, 单个样品操作一般可在30 分钟内完成。
3. 对材料适应性广, 可以提取包括各种植物根、茎、叶, 花、果等多种类植物样品。
4. 多次柱漂洗确保高纯度, OD260/OD280 典型的比值达2.0~2.2, 无DNA 残留, 可用于RT-PCR, Northern-blot 和各种实验。

注意事项:

1. 所有的离心步骤均在室温完成, 使用转速可以达到 12,000 rpm 的传统台式离心机。
2. 裂解液 GRL 中含有刺激性化合物, 操作时戴乳胶手套, 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。

操作步骤:

第一次使用前请先在漂洗液PW 瓶加入指定量无水乙醇(80ml)!

1. 液氮研磨:
 - a. 取 650 μ l 裂解液GRL, 转入1.5ml 离心管中, 备用。
 - b. 液氮中研磨适量植物组织成细粉后, 取 50mg 细粉转入上述装有裂解液 GRL 的离心管, 立即用手剧烈振荡20 秒, 充分裂解。
 - c. 用吸头吹打混匀帮助裂解或者剧烈涡旋震荡直到得到满意匀浆结果(或者电 动匀浆30 秒), 可以剪切DNA, 降低粘稠度和提高产量。
2. 将裂解物12,000 rpm 离心5-10 分钟, 沉淀不能裂解的碎片。
3. 取裂解物上清 500 μ l 转到 RNase-free DNA 清除柱中, 12,000 rpm 离心1 分钟,
4. 弃掉离心柱, 向收集管中加入 280 μ lRNA 结合液, 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。
5. 将混合物加入 RNase-freeRNA 结合柱中 12,000 rpm 离心1 分钟, 弃掉废液。确保离心后液体全部滤过去, 膜上没有残留, 如有必要, 可以加大离心力和离心时间。
6. 加入 500 μ l 漂洗液 RPW2, 12000rpm 离心 1min, 弃掉收集管中的废液;
7. 向离心柱中央加入60 μ l 的DNase I工作液, 20 $^{\circ}$ C-30 $^{\circ}$ C放置15分钟。

DNase I 工作液的配制: 取45 μ l DNase I Reaction Buffer放入RNase-free的管中, 再加入15 μ l

RNase-free DNase I充分混匀。

8. 加入 500ul **去蛋白液 RPW1**，静止 1 分钟，12000rpm 离心 1min，弃掉收集管中的废液；
9. 加入 500ul **漂洗液 RPW2**，12000rpm 离心 1min，弃掉收集管中的废液；
10. 复步骤 9；
11. 12000rpm 离心 2min ，将离心柱转移到无 RNase 离心管中，加入 30-50ul DEPC 处理水 12000rpm 离心 1 分钟，将 RNA 溶液置-70℃ 保存。