

RNAprep Pure Plant Plus Kit

(Polysaccharides&Polyphenolics-rich)

RNAprep Pure

多糖多酚植物总RNA提取试剂盒

(离心)

目录号 AO3203

产品内容

(50 preps)		
DP 441	裂解液SL (Buffer SL)	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
	RNase-Free DNase I (1500 U)	1 支
	无RNA酶双蒸水 (RNase-Free ddH ₂ O)	1 ml

猴桃，月季，烟草，沙棘，百合等）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，基本没有基因组、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SL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。
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

植物样本（100 mg）	总RNA量（μg）
棉花叶片	~25
拟南芥种子	~40
香蕉果肉	~5

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SL中加入β-巯基乙醇至终浓度5%，如475 μl SL中加入25 μl β-巯基乙醇。此裂解液最好现用现配。配好的SL 2-8℃可放置一个月，裂解液SL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SL，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，红豆种

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

以下所有离心步骤均在室温下进行。

1. 匀浆处理

50-100 mg植物叶片或果实果肉在液氮中迅速研磨成粉末，加入500 μ l裂解液SL（使用前请先检查是否已加入 β -巯基乙醇），立即涡旋剧烈震荡混匀。

注意1：对于预期RNA得率小于10 μ g的植物样本，请使用100 mg的起始样本量；对于富含淀粉的样本或成熟叶片，请将裂解液SL用量增加至700 μ l。

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. 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心2 min。

3. 将上清液转移至过滤柱CS上（过滤柱CS放在收集管中），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心2 min，小心吸取收集管中的上清至新的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。

4. 缓慢加入0.4倍上清体积的无水乙醇，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15 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。

5. 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15 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CR3放回收集管中。

6. 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

11. 12,000 rpm (~13,400×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中残余的漂洗液去除，离心后将吸附柱CR3在室温放置片刻，以充分晾干。如果有漂洗液残留，可能会影响后续的RT等实验。

12. 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30-50 μ l RNase-Free ddH₂O，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400×g) 离心1 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样品请在-70℃中保存。如果预期RNA得率大于30 μ g，可将步骤12中离心得到的RNA溶液再加入吸附柱CR3中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400×g) 离心1 min，得到RNA溶液。

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×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，OD₂₈₀测定，按照以下公式进行RNA浓度的计算：

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

坚持 CUSTOMER FIRST 理念

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