

## 植物总RNA快速提取试剂盒

产品货号：26125

产品规格：20T/50T

### 产品简介：

本试剂盒采用的方法改变传统一次性裂解的作法，对材料连续进行两次裂解，并确保RNA不被降解，有效地解离核蛋白与核酸的复合物。使用本试剂盒能在2h内完成RNA的提取工作，并得到质量较高的产品，通过琼脂糖凝胶电泳可以直观地看到，条带清晰，不拖尾。

本试剂盒可从植物组织(农作物、水果、花草)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。

### 产品组成：

产品组成	20T	50T	保存条件
裂解液I	15ml	37.5ml	室温
裂解液II	12ml	30ml	室温
去蛋白液	13ml	32.5ml	室温
缓冲液	8ml	20ml	室温
提取液	15ml	37.5ml	室温
分离液	5ml	12.5ml	室温
洗涤液	12ml	30ml	室温
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	2ml	5ml	室温
RNase-Free离心管	80个	200个	室温

本试剂盒在室温储存12个月不影响使用效果。

### 储存事项：

1. 不合适的储存于低温(4摄氏度或者负20摄氏度)会造成溶液沉淀，影响使用效果，因此运输和储存均在室温下(15-25摄氏度)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。

### 预防 RNase 污染：

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 ddH<sub>2</sub>O。(将水加入到干净的玻璃瓶中，加入 DEPC 至终浓度 0.1%(VNV)，混匀后放置过夜，高压灭菌。)

### 操作步骤 (仅供参考)：

注：所有相关器皿耗材都应均为RNase-free产品，操作过程要小心，戴口罩、手套避免环境中RNA酶污染样品。

1. 取试验材料放入研钵加入液氮快速研磨成粉末状，分装于1.5ml新的无RNase离心管中，每管约加材料50-100mg。
2. 迅速加入600μl RNA裂解液I。
3. 涡旋震荡混匀后再加入200μl分离液和200μl去蛋白液，振荡至彻底混匀。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

4. 冰上平放静置5min, 4°C 12000r/min离心10min。
5. 取约700μl上清液转入新的无RNase离心管后加入500μl RNA裂解液II。
6. 振荡混匀后冰上平放静置5min, 4°C 12000r/min离心5min。
7. 取约700μl上清液转入新的无RNase离心管, 加350μl缓冲液, 摇晃混匀, 再加入350μL去蛋白液, 震荡混匀。
8. 4°C 12000r/min离心10min。
9. 取约700μl上清液转入新的无RNase离心管并加入等体积的提取液, 温和混匀后室温放置10min。
10. 4°C 12000r/min离心10min, 小心倒掉上清。
11. 加入500μl洗涤液, 4°C 12000r/min离心1min。
12. 小心倒掉上清, 彻底风干残留液体, 加入30~50μl RNase-Free ddH<sub>2</sub>O溶解沉淀。
13. 得到RNA溶液并于-70°C保存。

#### RNA得率:

植物样本 (100mg)	总RNA量 (μg)
棉花叶片	~25
拟南芥种子	~40
香蕉果肉	~5
太子参块根	~15

#### RNA纯度及浓度检测:

**完整性:** RNA可用普通琼脂糖凝胶电泳由于细胞中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5kb和2kb, 分别相当于28S和18S 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:** OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>比值是衡量蛋白质污染程度的指标。高质量的RNA, OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>读数在1.8-2.1之间, 比值为2.0是高质量RNA的标志。OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>读数受测定所用溶液的pH值影响。同一个RNA样品, 假定在10mM Tris, pH7.5溶液中测出的OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>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 ddH<sub>2</sub>O稀释n倍, 用RNase-Free ddH<sub>2</sub>O将分光光度计调零, 取稀释液进行OD<sub>260</sub>, OD<sub>280</sub>测定, 按照以下公式进行RNA浓度的计算。

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

#### 注意事项:

1. 所有的离心步骤均在4摄氏度下进行, 使用转速可以达到13,000 rpm的传统台式离心机, 如Eppendorf 5415C或者类似离心机。
2. 需要自备研钵。
3. 裂解液I和去蛋白液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。
4. 关于DNA的微量残留:  
一般说来任何总RNA提取试剂在提取过程中无法完全避免DNA的微量残留 (DNase消化也无法做到10%无残留), 本公司的RNA提取产品, 由于采取了本公司独特的缓冲体系和基因组DNA清除技术, 绝大多数DNA已经被清除, 不需要DNase消化, 可直接用于反转录PCR和荧光定量PCR。个别特殊情况如DNA含量过于丰富造成残留或者要进行严格的mRNA表达量分析荧光定量PCR, 我们建议在进行模板和引物的选择时:
  - 1) 选用跨内含子的引物, 以穿过mRNA中的连接区, 这样DNA就不能作为模板参与扩增反应。
  - 2) 选择基因组DNA和cDNA上扩增的产物大小不一样的引物对。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com