

天
净
沙
系
列

CAT#:220515-50

常温运输和保存
有 2 个低温成分

BINGENE

植物 RNA 提取试剂盒

(过柱法, 含 RNase-free DNase)

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	本产品是在植物 RNA 纯化试剂盒（过柱法）基础上改进得产品，它整合了柱式原位 DNase 的消化步骤，用于去除植物基因组 DNA 污染，提取的 RNA 通过 PCR 验证不含基因组 DNA 污染。该产品特点如下： 1. 操作简单快速，处理一个样品只需要约十几分钟。 2. 所得 RNA 的 OD260/280 一般都在 2.0 左右。 3. 能够有效去除多糖、多酚和基因组 DNA 的污染。 4. 所提取 RNA 不含基因组 DNA 污染（电泳及 PCR 均检测不到）。 5. 得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、RT-LAMP、Northern 杂交、cDNA 合成等实验。 6. 性价比高于进口的柱式植物 RNA 提取产品。 7. 本试剂盒不能用于 miRNA 的纯化。 8. 本产品足够 50 次微量提取。			
规格及成分	本产品用大纸盒包装			
	成分	编号	规格	包装材料
	植物 RNA 纯化溶液 A	220514a	50 mL	60mL 本色瓶
	植物 RNA 纯化溶液 B	220514b	15 mL	15mL 本色瓶
	植物 RNA 纯化溶液 C	220514c	50 mL	60mL 本色瓶
	离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋
	通用洗柱液	220143	50 mL×2	60mL 本色瓶
	RNase-free DNase (5U/uL)	220173a	0.1mL	0.5mL 红盖管
	10×硅胶膜 DNase 反应液	220173b	0.25 mL	0.5mL 绿盖管
	RNA 洗脱液	71207	10 mL	10 mL 本色瓶
	使用手册	220515sc	1 份	无
运输及保存	常温运输和保存，但 RNase-free DNase 和硅胶膜 DNase 反应液需要-20℃保存，有效期一年			
自备试剂	氯仿			
使用方法	1. 准备材料。每次微量提取一般需要 100-200 mg 植物叶片、或 50-100 mg 植物种子、或 200-500 mg 植物果实。 2. 样品破碎： 匀浆法：先将新鲜植物组织用剪刀剪成小块，放入 10-15 mL 塑料离心管中，加入 1 mL 植物 RNA 纯化溶液 A，然后用匀浆器匀浆 5-20 秒。匀浆时会产生泡沫，但不影响提取效果。将 1mL 匀浆液转移到			

1.5mL 的塑料离心管中，有的植物组织（比如果实）含有大量水份，匀浆液会多于 1 mL，转移时也只取 1 mL。。**注意：植物 RNA 纯化溶液 A 4℃放置时可能会产生沉淀，用前必须放在 65℃水浴使沉淀彻底溶解并充分摇匀后再取用。**

液氮研磨法（适用于复杂，易降解样品）：取适量新鲜植物组织放入含液氮的研钵中，迅速将组织研磨成粉末后，将粉末转移到 1.5mL 的塑料离心管中，加入 1 mL 植物 RNA 纯化溶液 A，立即剧烈振荡 20 秒，充分混匀。

3. 在装有 1mL 匀浆液或研磨物的离心管中加入 0.3 mL 的植物 RNA 纯化溶液 B 和 0.2 mL 自备氯仿，在振荡器上振荡 30 秒混匀，此时溶液呈均匀的乳浊状。振荡器振荡时必须使管底溶液震荡起来。
4. 室温 13000 rpm 离心 3-5 分钟，两相间将有约 5 毫米厚的细胞破碎物。
5. 将上清液(约 0.6 mL)转移到另一干净的 1.5 mL 塑料离心管中，下层有机相和中间层含有 DNA、蛋白质和其他杂质，避免触及或吸取。
6. 加入跟上清液等体积的植物 RNA 纯化溶液 C，充分颠倒混匀。如果有沉淀产生（对某些植物，属于正常现象），千万不要去掉沉淀。
7. 将一半的混合液（包括沉淀物）转移到离心吸附柱中，13000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。
8. 将剩下的一半的混合液（包括沉淀物）转移到同一离心吸附柱中，13000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。
9. 加 0.7mL 通用洗柱液，13000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。再加 0.3 mL 通用洗柱液，13000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。
10. 13000 rpm 室温离心 10 秒以便去除残留液体。此步很重要，否则残留的通用洗柱液会抑制后续反应中 DNase 的活性。
11. 配制 DNase 硅胶膜工作液：将 2uL (10 U) 本试剂盒提供的 RNase-free DNase，5uL 10×硅胶膜 DNase 反应液和 43uL RNA 洗脱液混合，共 50uL。
12. 将 DNase 工作液全部 50uL 加入到离心吸附柱中，室温放置 10-30 分钟。
13. 直接在离心吸附柱中加 0.7 mL 通用洗柱液。
14. 13000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。
15. 再加 0.3 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中，13000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。
16. 13000 rpm 室温离心半分钟。此步十分重要，否则残留的乙醇（通用洗

	柱液中的成分)会影响 RNA 的使用。 17. 将离心吸附柱转移到 RNase-free 收集管中, 加入 50 uL RNA 洗脱液, 室温放置 2 分钟。 18. 13000 rpm 室温离心半分钟, 离心管中溶液即为 RNA 样品。 19. 所得 RNA 溶液可以立即使用或存放于-80℃待用。如果要进行甲醛变性电泳检测。如果使用非变性胶电泳, 则必须使用 RNA 专门的上样液。千万不能使用 DNA 上样液 (因为它一般没有经过去 RNase 处理)。
关联产品	mRNA 提取试剂盒