

# 操作手册

## 植物 RNA 提取试剂盒

Catalog No. TR224-50 (50 次反应)

### Highlights

- 可在 10 分钟内快速从各种植物样品中提取到最多 50 $\mu$ g 总 RNA。
- 获得的 RNA 产量高、纯度好，可以直接用于酶切、PCR、芯片，高通量测序等分子生物学实验。
- 此产品仅供科研使用。

Ver.1.1.6

## 产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次
植物裂解管	室温	50 个
RNA 裂解液	室温	50 ml
RNA 预洗液	室温	25 ml
RNA 洗涤液	室温	12 ml
RNase-free H <sub>2</sub> O	室温	5 ml
抑制物去除液	室温	40 ml
3 号柱 G	室温	50 个
2 号柱	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	2X50 个
抑制物去除柱	室温	50 个

**Note** –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

## 注意事项:

1. 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。

## 特性:

- **样品:** 可有效的从 150mg 以内的树叶，根茎，蓓蕾，花，水果，种子等植物提取到 RNA。
- **RNA 纯度:** 获得的 RNA 产量高、纯度好，可以直接用 PCR，高通量测序等各种分子生物学实验。回收的 RNA 里可能会有微量的 DNA 残留，如要完全去除可用 DNase I 采用柱上消化方法。
- **操作时间:** 10 分钟。
- **操作温度:** 室温 (15-30°C)。
- 

## 试剂制备

**RNA 洗涤液** 添加 48ml100%无水乙醇（或 52ml95%无水乙醇）到 12ml 的 **RNA 洗涤液** 中并做好标记。

## 操作步骤:

以下离心步骤的离心力均在10,000-16,000 x g下进行，除非特殊说明。

1. 直接添加 150mg 以内的新鲜或者冻存的植物样品到裂解管中，然后添加 800 $\mu$ l 的 RNA 裂解液到裂解管中，在涡旋仪上振荡 1 分钟以内混匀，。（如果使用高频振荡器时间可以适当缩短）
2. 将裂解管离心 1 分钟。
3. 将上述步骤中 400 $\mu$ l 上清加到 3 号柱 G 中，3 号柱 G 套在一个收集管内，离心 1 分钟。**保留滤出液。**
4. 添加等体积的无水乙醇（95-100%）到滤出液中混匀。
5. 将上述混合液添加 2 号柱中，2 号柱套在一个收集管内，离心 1 分钟。去除滤出液。
6. 添加 400 $\mu$ l RNA 预洗液到 2 号柱中，离心 1 分钟。去除滤出液。
7. 添加 700 $\mu$ l RNA 洗涤液到 2 号柱中，离心 1 分钟。去除滤出液。
8. 添加 400 $\mu$ l RNA 洗涤液到 2 号柱中，离心 2 分钟。确保完全去除洗涤液。
9. 将 2 号柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加 $\geq 50\mu$ l 的 RNase-free H<sub>2</sub>O 到柱基质上，室温下放置 2-5 分钟，离心 1 分钟来洗脱 RNA。
10. 将抑制物去除柱套在一个收集管内，添加600 $\mu$ l的抑制物去除液，在 $\geq 8,000$  x g下离心3分钟。
11. 将准备好的抑制物去除柱套在一个干净的1.5ml离心管中，把洗脱的RNA放入去除柱内，并在8,000 x g下离心1分钟，得到的RNA可进行后续PCR等试验或放在-80℃以下保存。

## DNase I 柱上消化步骤: (DNase I为选配组件)

在处理完第5步之后

a) 添加400 $\mu$ l的RNA洗涤液到2号柱子里，离心1分钟。去除滤出液。

b) 对于每一次的样品处理需要制备80 $\mu$ l的DNase I反应液。配比为 DNase I 5 $\mu$ l DNA消化液 75 $\mu$ l

c) 直接添加80 $\mu$ l的DNase I反应液到2号柱上，在室温下（20-30℃）孵育15分钟。

从第6步开始继续操作。

## 保护在DNA/RNA Shield™中的样品

1. 取800μl保存有样品的DNA/RNA Shield™溶液添加到裂解管里。
2. 放到合适的振荡器中振荡。
3. 离心1分钟。
4. 取400μl的上清到一个干净的离心管中。
5. 添加1体积的RNA裂解液到离心管中，混匀。
6. 将上述混合物添加到3号柱G中，3号柱G套在一个收集管内，离心1分钟。保留滤出液。
7. 从第3页操作步骤的第4步开始继续下面的实验。