

植物总 RNA 提取液套装说明书

产品组成

植物总 RNA 提取液套装	试用装	成品
Cat. No.	5123005	5123100
植物总 RNA 提取液	5 ml	120 ml
β -巯基乙醇	50 μ l	1.2 ml
Buffer EX	5 ml	120 ml
RNA 沉淀液	3 ml	72 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

试剂盒如果储存于常温（0~30℃），可在三年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至三年以上。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品不涉及酚氯仿有机溶剂的使用，可以从 ≥ 100 mg 的植物中提取到高纯度总 RNA，特别适合从高多糖多酚，且 RNA 含量低的样本（块茎，种子等）中提取 RNA。植物组织经植物总 RNA 提取液和 Buffer EX 抽提获得含有核酸的水相，特别设计的 RNA 沉淀液可选择性地沉淀水相中的 RNA，基因组 DNA 和蛋白质则维持溶解状态。获得的 RNA 沉淀经 70% 乙醇洗涤后，用 RNase-free 水溶解，即可用于 RT-PCR，Northern blot，Dot blot，mRNA 分离等各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 70%乙醇（DEPC 处理水配制）、RNase-free 水或者 DEPC 处理水。
2. RNase-free 1.5 ml 离心管
3. 移液器及吸头（为避免 RNA 酶的污染，建议选用含有滤芯的 RNase-free 移液器吸头）
4. 一次性手套、口罩及防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 旋涡振荡器
7. 无 RNA 酶使用的实验室

使用前准备

1. 检查植物总 RNA 提取液是否有沉淀物析出，如有沉淀物请于 60℃温育溶解后再使用。
2. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
3. 每 1 ml 植物总 RNA 提取液中加入 10 μ l β -巯基乙醇，混合均匀。加入 β -巯基乙醇的植物总 RNA 提取液一个月内使用不影响实验结果。
4. 因为唾液、皮肤上均含有 RNA 酶，所以 RNA 提取的全过程都需要戴乳胶手套和口罩。
5. RNase-free 水处理方法：将去离子水加入到可灭菌的玻璃容器中，加入焦磷酸二乙酯（DEPC）至终浓度为 0.1% (v/v)，混合均匀，37℃静置过夜，121℃，20 分钟灭菌。

操作步骤：

以下步骤是按从 100 mg 植物组织中提取 RNA 设计的,如果样本中 RNA 含量低,可按比例增加组织用量以及植物总 RNA 提取液、Buffer EX 和 RNA 沉淀液的用量。

1. 在研钵中加入约 300—500 mg 植物组织,加入液氮,将组织研磨至粉末状,再用液氮预冷的 1.5 ml 离心管称取 100 mg 研磨成粉末状的组织。

* 研磨组织时应及时补加液氮,避免组织融化,以免内源性的 RNA 酶恢复活性而降解 RNA。

* 每 600 μ l 已加入 β -巯基乙醇的植物总 RNA 提取液勿提取超过 100 mg 的组织,否则可能导致最终纯化的 RNA 中混有基因组 DNA 污染。

* 选用新鲜嫩芽组织时,样本量应当减半,否则可能导致后续 RNA 沉淀中不溶物增加。

2. 加入 600 μ l 已加入 β -巯基乙醇的植物总 RNA 提取液,旋涡振荡直至组织全部溶解。

3. 加入 600 μ l Buffer EX,用力混合均匀,13000 rpm 离心 10 分钟。

4. 小心吸取 350 μ l 上清,转入一个洁净的 1.5 ml 离心管中。

* 注意不要带入中间的蛋白沉淀物。

5. 加入 350 μ l (等体积) RNA 沉淀液,盖上管盖,混合均匀,13000 rpm 离心 5 分钟。

* 如果加入RNA沉淀液混匀后未观察到上清液变浑浊,说明样本中RNA含量低,应延长离心时间至10分钟。

6. 弃上清,低速离心数秒使管壁上的上清液聚集到管底,用 200 μ l 吸头吸尽残留的液体。

* 上清液中含基因组DNA,应确保弃尽,否则可能导致提取的RNA中混有基因组DNA。

7. 加入 1 ml 70%乙醇,盖上管盖,旋涡振荡悬浮 RNA 沉淀,13000 rpm 离心 3 分钟。

8. 弃上清,盖上管盖,低速离心数秒使管壁上的乙醇聚集到管底,用 200 μ l 吸头吸尽残留的乙醇,保留管底及管壁的白色 RNA 沉淀。开盖,室温静置 5 分钟干燥 RNA。

* 注意从某些样本中提取RNA时,RNA不是在离心管管底形成白点,而是会以均匀的薄雾状沉淀形式吸附在管壁上。请注意仔细观察并在步骤9操作时特别留意将RNase-free水加到管壁的相应位置上溶解RNA。

9. 加入 50~200 μ l RNase-free 水旋涡振荡溶解 RNA,并将 RNA 储存于 -70°C 以下备用。

* 如果RNA沉淀中有不溶物存在,请将RNA溶液于13000 rpm离心1分钟,吸取RNA溶液转移到一个新的RNase-free 1.5 ml离心管中储存。

* 本试剂盒提取的RNA,电泳检测一般观察不到基因组DNA条带,若后续实验需要彻底除去DNA,请增加 DNase I (Simgen, Cat.No. 8003050) 消化步骤。