

DiSpin 植物 RNA 快速提取试剂盒

货号: DP229-01

规格: 50 次

保存: 15-25°C

【产品简介】

本产品无需使用苯酚和氯仿快速提取植物样本 RNA，试剂盒中所配备的基因组 DNA 清除柱可以有效清除 gDNA 残留，得到的 RNA 一般不需要 DNase 消化，可用于反转录 PCR、荧光定量 PCR 等实验。独特的裂解液迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶，植物 RNA 助提剂 PLANT Di 帮助结合多糖多酚并通过离心去除，吸附在基因组 DNA 清除柱上的残留 DNA 无法洗脱从而被清除掉。滤过的 RNA 用乙醇调节结合条件后，RNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，通过漂洗和离心的步骤，去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物，蛋白等杂质去除，在低盐 RNase free H₂O 的洗脱下得到纯净的 RNA。

【产品组分】

货号	组分	体积
DP229-101	裂解液 RLT	50 ml
DP229-102	裂解液 CLB	8 ml
DP229-103	裂解液 RLT Plus	25 ml
DP229-104	去蛋白液 RW1	40 ml
DP229-105	漂洗液 RW (首次使用前按说明加入乙醇)	10 ml
DP229-106	RNase-free Water	10 ml
DP229-107	PLANT Di	5 ml
DP229-108	吸附柱 RA 和收集管 (RNase-free)	50 套
DP229-109	基因组 DNA 清除柱和收集管	50 套

【保存条件】

室温保存，保质期一年。

【产品特点】

1. 不需要使用苯酚，氯仿等试剂，也无需乙醇沉淀。
2. 快速，简捷，单个样品操作 25 分钟内完成。
3. 独有的基因组 DNA 清除柱确保有效清除 gDNA 残留，得到的 RNA 不需要 DNase 消化，可直接用于 PCR、荧光定量 PCR 等实验。
4. 多次柱漂洗确保高纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值达 2.1-2.2，基本无 DNA 残留，可用于 RT-PCR，Northern-blot 等实验。

【注意事项】

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到 13,000 rpm 的离心机。
2. 需要自备乙醇。
3. 样品处理量不能超过基因组 DNA 吸附柱和 RNA 吸附柱处理范围，否则会造成 DNA 残留或者产量降低。在不清楚样品 DNA/RNA 含量时建议先使用较少的样品处理量，后面根据具体试验情况增加或者减少处理量。
4. 裂解液 RLT 和 RLT Plus 和去蛋白液 RW1 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，用清水或者生理盐水冲洗。

5. 关于 DNA 的微量残留:

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, 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。
- 3) 将 RNA 提取物用 RNase-free 的 DNase I 处理以提高效果。
- 4) 在步骤去蛋白液 RW1 漂洗前, 直接在吸附柱上进行 DNase I 处理。

【使用方法】

第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶加入指定量无水乙醇。

1. **直接研磨法** (提取简单植物样品推荐此法, 简单样品也可以用液氮研磨法):

- a. 新鲜植物组织称重后取 100mg-200mg 迅速剪成小块放入研钵(冰冻保存或者液氮保存样品可直接称重后取 100mg-200mg 放入研钵), 加入 10 体积(1ml) RLT 和 1 体积(100 μ l) PLANT Di 室温下充分研磨成匀浆, 注意应该迅速研磨让组织和裂解液 RLT 立刻充分接触以抑制 RNA 酶活性。

注: PLANT Di 是提取多糖多酚次级代谢产物色素含量丰富的困难样品不可缺少成分。

- b. 将裂解物转入离心管, 剧烈摇晃振荡 15 秒, 13,000rpm 离心 5-10 分钟, 沉淀不能裂解的碎片和结合有多糖多酚的 PLANT Di。
- c. 取 480 μ l 裂解物上清(在不超过基因组 DNA 清除柱能力的情况下可以取更多的上清, 这样可以提高产量) 转到一个新离心管。加入上清体积一半的无水乙醇, 此时可能出现沉淀, 但是不影响提取过程, 立即吹打混匀, 不要离心。
- d. 迅速将混合物(每次小于 720 μ l, 多可以分两次加入)加入一个基因组清除柱中, (清除柱放入收集管中) 13,000 rpm 离心 2 分钟, 弃掉废液。

2. **液氮研磨法** (提取复杂, 易降解样品时推荐此法):

- a. 取 500 μ l 裂解液 RLT, 转入 1.5ml 离心管中, 加入 50 μ l PLANT Di 混匀备用。
- b. 研磨适量植物组织成细粉后, 取 50mg-100mg 样品加入装有 RLT 和 PLANT Di 的离心管, 立刻手动剧烈振荡 20 秒, 充分裂解。
- c. 用吸头吹打混匀裂解或者剧烈涡旋震荡直到得到满意匀浆结果(或者电动匀浆 30 秒), 可以剪切 DNA, 降低粘稠度和提高产量。
- d. 将裂解物 13,000 rpm 离心 5-10 分钟, 沉淀不能裂解的碎片和结合有多糖多酚的 PLANT Di。
- e. 取裂解物上清(在不超过基因组 DNA 清除柱能力的情况下可以取更多的上清, 这样可以提高产量) 转到一个新离心管。加入上清体积一半的无水乙醇, 此时可能出现沉淀, 但是不影响提取过程, 立即吹打混匀, 不要离心。
- f. 立刻将混合物(每次小于 720 μ l, 多可以分两次加入)加入一个基因组清除柱中, (清除柱放入收集管中) 13,000 rpm 离心 2 分钟, 弃掉废液。

3. 将基因组 DNA 清除柱子放入 2ml 离心管内, 在基因组清除柱内加 500 μ l 裂解液 RLT Plus, 13,000 rpm 离心 30 秒, 收集滤液(RNA 在滤液中), 用微量移液器较精确估计滤过液体积(通常为 450-500 μ l 左右, 滤过时候损失体积应该减去), 加入 0.5 倍体积的无水乙醇, 此时可能出现沉淀, 但是不影响提取过程, 立即吹打混匀, 不要离心。

4. 立刻将混合物(每次小于 720 μ l, 可分两次加入)加入一个吸附柱 RA 中, (吸附柱放入收集管中) 13,000 rpm 离心 2 分钟, 弃掉废液。确保离心后液体全部滤过去, 膜上没有残留, 如有必要, 可以加大离心力和离心时间。

5. 加 700 μ l 去蛋白液 RW1, 室温放置 1 分钟, 13,000rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。

6. 加入 500 μ l 漂洗液 RW (请先检查是否已加入无水乙醇!), 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。加入 500 μ l 漂洗液 RW, 重复一遍。

7. 将吸附柱 RA 放回空收集管中, 13,000 rpm 离心 2 分钟, 除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

8. 取出吸附柱 RA, 放入一个 RNase free 离心管中, 根据预期 RNA 产量在吸附膜的中间部位加 30-50 μ l RNase free water(事先在 70-90 $^{\circ}$ C 水浴中加热可提高产量), 室温放置 1 分钟, 12,000 rpm 离心 1 分钟。

9. 如果预期 RNA 产量>30μg, 加 30-50μl RNase free water 重复步骤 8, 合并两次洗液, 或者使用第一次的洗脱液加回到吸附柱重复步骤一遍(如果需要 RNA 浓度高)。

洗脱两遍的 RNA 洗脱液浓度高,分两次洗脱合并洗脱液的 RNA 产量比前者高 15-30%,但是浓度要低,用户根据需要选择。

补充说明: 植物种类非常复杂,不同的植物种类和部位的样品使用本试剂盒效果不同。部分的样品在经过基因组 DNA 清除柱清除残留 DNA 的同时可能会严重降低产量。该种情况下,建议略去基因组 DNA 清除柱子的步骤,部分情况下可能会提高产量。如果提高产量的同时 DNA 残留也增多的情况下,客户可以根据实验需要加一个 DNA 酶柱上消化的步骤来清除残留 DNA 或者用传统的 DNA 酶消化来清除 DNA 残留。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时,承诺为您更换等量合格产品,本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。