

## 柱式超纯多糖多酚植物 RNA 小提试剂盒

货号: AC13990

规格: 50T

保存: 常温, 其中 RNase-free DNase 于 4°C 保存, 12 个月。

### 产品说明:

本产品采用了独特的裂解系统, 无需使用苯酚氯仿抽提, 可以对各种简单植物组织材料 (如叶片、茎、幼苗等) 进行 RNA 的提取。优化的裂解系统尤其适合富含多糖多酚的植物组织样品 (如果实、种子等)、真菌等进行 RNA 的提取, 适用范围更加广泛。本试剂盒操作方便快捷, 提取的植物 RNA 纯度高, 极少含蛋白质、基因组 DNA 和其它杂质的污染, 可直接用于 RT-PCR、Northern blot、Real Time PCR、构建 cDNA 文库等实验。

### 产品组份:

组分	总量	备注
柱平衡液	30 mL	
裂解液	40 mL	使用前配制, 加入 $\beta$ -巯基乙醇后 4°C 保存最长 1 个月
漂洗液 1 (WB1)	40 mL	5 $\mu$ L
漂洗液 2 (WB2)	12 mL	使用前请按瓶标加入无水乙醇
RNase-free DNase (2000 U)	1 瓶	4°C 保存
膜反应液	4 mL	
RNase-free ddH <sub>2</sub> O (管装)	1 mL	
RNase-free ddH <sub>2</sub> O (瓶装)	15 mL	
RNase-free 注射器	1 支	
过滤柱	50 个	
吸附柱	50 个	密封干燥保存
2 mL 收集管	2 $\times$ 50 个	
1.5 mL RNase-free 离心管	50 个	

### 使用方法:

#### 自备材料: $\beta$ -巯基乙醇。

1. RNase-free DNase 母液的配制: 用 1mL RNase-free 注射器抽取 550  $\mu$ L RNase-free ddH<sub>2</sub>O, 打进装有 RNase-free DNase (2000U) 干粉的玻璃瓶中, 轻柔混匀溶解, 分装后 -20°C 保存 (可保存 9 个月)。

注: 从 -20°C 融化后的 RNase-free DNase 母液保存于 4°C (可保存 6 周), 不要再次冻存。

2. 裂解液可能会形成沉淀, 如果有沉淀出现, 请于 60°C 加热溶解, 然后待恢复至室温后使用。操作前请根据样品数量, 按照 1 mL 裂解液中加入 50  $\mu$ L  $\beta$ -巯基乙醇的比例, 配制裂解液。配好的裂解液可在 4°C 放置 1 个月。

3. 使用前请在漂洗液 2 (WB2) 中按瓶标加入无水乙醇，并做好标记。

### 操作步骤

1. 柱平衡：向离心吸附柱中加入 500  $\mu\text{L}$  柱平衡液，12000 rpm 离心 2 min，倒掉收集管中的废液。

2. 取 500  $\mu\text{L}$  裂解液（使用前请先检查是否已加入 $\beta$ -巯基乙醇）加入到 1.5 mL RNase-free 离心管中。组织样品经液氮研磨后，将研磨成粉末状的样品（50-100 mg）加入到上述含有 500  $\mu\text{L}$  裂解液的 1.5 mL 离心管中，涡旋剧烈震荡混匀直至裂解液中无明显沉淀。

注：对于预期 RNA 得率小于 10  $\mu\text{g}$  的样本，请使用 100 mg 的样本量；对于富含淀粉的样本或成熟叶片，请将裂解液用量增加至 700  $\mu\text{L}$ 。

3. 12000 rpm 离心 2 min。

4. 将过滤柱放入收集管中，然后将上一步离心收集的上清液用移液器转移到过滤柱中，12000 rpm 离心 2 min，小心吸取 收集管中的滤液至新的 1.5 mL RNase-free 离心管中，吸头尽量避免接触收集管中的细胞碎片沉淀。

5. 缓慢加入 0.4 倍滤液体积的无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀），将得到的溶液和沉淀一起转入离心吸附柱（吸附柱 放在收集管中），12000 rpm 离心 15 s，弃除收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

6. 向吸附柱中加入 350  $\mu\text{L}$  漂洗液 1 (WB1)，12000 rpm 离心 1 min，弃除收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

7. RNase-free DNase 工作液配制：取 10  $\mu\text{L}$  RNase-free DNase 母液放入新的 RNase-free 离心管中，加入 70  $\mu\text{L}$  膜反应液，轻柔混匀。

8. 向吸附柱中央加入 80  $\mu\text{L}$  RNase-free DNase 工作液，室温放置 15 min。

9. 向吸附柱中加入 350  $\mu\text{L}$  漂洗液 1 (WB1)，12000 rpm 离心 1 min，弃除收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

10. 向吸附柱中加入 500  $\mu\text{L}$  漂洗液 2 (WB2)（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），室温放置 2 min，12000 rpm 离心 1 min，弃除收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

11. 重复操作步骤 10 一次。

12. 将吸附柱放回收集管中，12000 rpm 离心 3 min。此步骤十分重要，否则残留的乙醇（漂洗液 (WB2) 中的成分）会影响 RNA 的使用。

13. 将吸附柱放入一个新的 1.5 mL RNase-free 离心管中，室温放置 2 min，向吸附膜中央加入 50-100  $\mu\text{L}$  RNase-free ddH<sub>2</sub>O，室温放置 1 min，12000 rpm 离心 1 min，得到 RNA 溶液。所得 RNA 溶液应立即使用或适量分装后存放于 -80 $^{\circ}\text{C}$  待用。

### 注意事项：

1. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗，食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。

2. 为了您的安全和健康，请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。