

多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒 (带 gDNA 过滤器)

目录号: EN318-50

❖ 适用范围:

适用于快速提取植物组织的总RNA, 采用独特的gDNA过滤器, 高效滤除gDNA, RNA可直接用于RT, RT-PCR, RT-qPCR, 普通转录组测序、RACE等。

适用于各种植物样本的根、茎、叶、花! 多糖多酚、简单植物, 一网打尽!

成功案例: 棉花、海棠、黑加仑、烟草、拟南芥、虎杖、大豆、草莓、冬青、月季花雌蕊、蔷薇、沙棘、冬枣、芦荟、仙人掌、报春花、水稻、玉米、唐菖蒲、樱桃、白玉兰、毛白杨、樱花、葡萄、百合花、百合叶子雌蕊雄蕊、紫菜、绿藻、香蕉、水仙花、青花菜、地被菊、苹果、梅花、番茄、石斛、毛桃、苧麻、慈姑、葛根、甘肃桃、玫瑰花、槟榔果、甜糖菊、硅藻、牡丹、胡杨、油桐果、梨子皮、板栗花序、青皮云杉、红树根、铁线蕨、黄瓜、小麦叶子种子、番木瓜、甘薯、紫薯、油松、油茶、马尾松、芫菁、毛果杨、木薯、大叶落地生根、山杏、旱柳、桉树、琵琶花果、麻风树, 沙生槐、荞麦...

试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50次(R318-50)
裂解液 PRL	室温	50 ml
糖酚去除剂 PAD	室温	5 ml
去蛋白液 RW1	室温	40 ml
漂洗液 RW	室温	10 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml
gDNA 过滤器和收集管	室温	50 套
RNase-free RNA 吸附柱和收集管	室温	50 套

本试剂盒在室温(15°C-25°C) 储存 12 个月不影响使用效果。

❖ 产品特点:

高效: 提取全过程仅需 20 分钟!

高质: 28s/18s=2:1, OD260/280=2.0~2.2!

亮点: gDNA 过滤器, 1 分钟高效滤除基因组 DNA!

❖ 实验前准备:

自备无水乙醇。

研钵洗净、烘干。如果实验室有研磨仪的话, 只需要准备 2.0ml 圆底离心管和 5mm 钢珠。

1.5ml 无酶离心管、无酶蓝吸头、无酶黄吸头、无酶白吸头。

操作步骤：

- ⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶加入指定量无水乙醇！
- ⇒ 第一次使用前请将 5ml 糖酚去除剂 PAD 全部加入 50ml 裂解液 PRL 中，混匀配成 PRL 工作液。

1. 液氮研磨（手工）：

- a. 取 550 μ l 裂解液 PRL 工作液，转入 1.5ml 离心管中。
- b. 液氮中研磨 50mg 植物组织成细粉，将细粉转入上述装有 PRL 工作液离心管中，立即高速涡旋 20 秒。放离心管架上，接着研磨下一个样本。
- c. 将裂解物 13,000 rpm 离心 5-10 分钟，沉淀不能裂解的碎片。

注意：以上液氮研磨法用户可以根据需要加倍处理，可以提高产量。也就是使用 1.1ml 的裂解液 PRL 工作液和 100mg 的样品。

2. 小心吸取上清（一般 480 μ l，注意不要吸到界面沉淀物质）转入一个 gDNA 过滤器中（过滤器放入收集管中），13,000 rpm 离心 1 分钟，**保留滤液**（RNA 在滤液中）。

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。

3. 向滤液中加入 0.5 倍体积的无水乙醇，高速涡旋 20 秒混匀。

注：如有沉淀析出，用枪吸打 10-15 次，不要离心。

4. 将上述滤液混合物(每次小于 720 μ l，)转入 RNA 吸附柱中（吸附柱放入收集管中），13,000 rpm 离心 2 分钟，弃掉滤液。

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 RW1，13,000rpm 离心 30 秒，弃掉滤液。
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。
7. 重复步骤 6。
8. 将 RNA 吸附柱放回空收集管中，13,000 rpm 离心 2 分钟，除去漂洗液中残留乙醇。
9. 取出 RNA 吸附柱，放入新的 1.5ml RNase-free 离心管中，向 RNA 吸附膜的中央悬空滴加 30-50 μ l RNase-free H₂O（事先在 70-90 $^{\circ}$ C 水浴中加热可提高产量），室温放置 1 分钟，13,000 rpm 离心 1 分钟。

附录：液氮研磨（自动研磨仪）：

- a. 把研磨模块丢到液氮中预冷，直到没有气泡冒出视为预冷完毕。
- b. 在 2.0ml 圆底离心管(不需要无酶管，液氮研磨中不破裂就好)中加入 5mm 钢珠一粒，放进 100mg 左右的样本，投入液氮中预冷。
- c. 把所有预冷好的离心管插入研磨模块中，放进研磨仪，设置 55 个频率，震荡 30 秒。（以北京赫得研磨仪京 N9548 为例）
- d. 研磨完成后，马上加 1.1ml 裂解液，涡旋 15 秒。
- f. 将裂解物 13,000 rpm 离心 5-10 分钟，沉淀不能裂解的碎片。

免液氮直接研磨（自动研磨仪）——适用于新鲜样本 或者糖酚含量少的样本

- a. 在 2.0ml 圆底离心管（不需要无酶管，液氮研磨中不破裂就好）中加入 5mm 钢珠一粒，放进 100mg 左右的样本，马上加 1.1ml 裂解液，设置 6 个频率，震荡 1 分钟。（以北京赫得研磨仪一京 N9548 为例）
- b. 将裂解物 13,000 rpm 离心 5-10 分钟，沉淀不能裂解的碎片。