

天
净
沙
系
列

CAT#:71203-50
常温运输和保存

TIANDZ

柱式植物 RNA_{OUT}

Column Plant RNA_{OUT}

使用手册 V1.2

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

| <p>产品及特点</p> | <p>本产品是天泽基因植物 RNA_{OUT} (CAT#: 3080) 的柱式升级产品, 它结合了植物 RNA_{OUT} 的高效性(其效果在近五十多种各类植物中得到验证, 植物名单见植物 RNA_{OUT} 产品介绍的附录)和天泽基因柱式纯化系列产品的快捷性。该产品特点如下:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 操作更加简单快速, 处理一个样品只需要约十分钟, 比植物 RNA_{OUT} 快一倍。 2. RNA 纯度更高, 平均 OD_{260/280} 一般都在 2.0 左右, 能够有效去除大多数植物中的多糖污染。 3. 适用于所有用植物 RNA_{OUT} 能提出 RNA 的植物(注:对有些植物可能需要在溶液 A 中额外添加 RVC)。 4. 得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、cDNA 合成等实验。 5. 性价比高于进口的柱式植物 RNA 提取产品。 6. 由于小 RNA 太短很难上柱, 故如果要提取小 RNA 需要用本公司专门的试剂盒。 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---------------------|--|-------|--|----|----|-------|-----------------|--------|-------|-----------------|--------|-------|-----------------|--------|-------|-------|-------|------|-------|-------|-------|---------|-------|-------|------|---------|-----|
| <p>规格及成分</p> | <table border="1" data-bbox="520 1016 1326 1525"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>大纸盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>柱式植物 RNA 提取溶液 A</td> <td>71203a</td> <td>50 mL</td> </tr> <tr> <td>柱式植物 RNA 提取溶液 B</td> <td>71203b</td> <td>15 mL</td> </tr> <tr> <td>柱式植物 RNA 提取溶液 C</td> <td>71203c</td> <td>50 mL</td> </tr> <tr> <td>离心吸附柱</td> <td>60911</td> <td>50 套</td> </tr> <tr> <td>通用洗柱液</td> <td>60408</td> <td>50 mL</td> </tr> <tr> <td>RNA 洗脱液</td> <td>71207</td> <td>10 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>71203sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table> <p>注: 溶液 B 为淡黄色液体, 使用前请观察颜色是否正常。若溶液 B 有油粒状颗粒及分层, 属正常现象, 不影响使用。</p> | | | 成份 | 编号 | 大纸盒包装 | 柱式植物 RNA 提取溶液 A | 71203a | 50 mL | 柱式植物 RNA 提取溶液 B | 71203b | 15 mL | 柱式植物 RNA 提取溶液 C | 71203c | 50 mL | 离心吸附柱 | 60911 | 50 套 | 通用洗柱液 | 60408 | 50 mL | RNA 洗脱液 | 71207 | 10 mL | 使用手册 | 71203sc | 1 份 |
| 成份 | 编号 | 大纸盒包装 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱式植物 RNA 提取溶液 A | 71203a | 50 mL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱式植物 RNA 提取溶液 B | 71203b | 15 mL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 柱式植物 RNA 提取溶液 C | 71203c | 50 mL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 离心吸附柱 | 60911 | 50 套 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 通用洗柱液 | 60408 | 50 mL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| RNA 洗脱液 | 71207 | 10 mL | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 使用手册 | 71203sc | 1 份 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>运输及保存</p> | <p>常温运输和保存, 溶液 B 需要 4℃ 保存, 有效期一年。</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>自备试剂</p> | <p>氯仿。</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <p>使用方法</p> | <ol style="list-style-type: none"> 1. 估算组织细胞的用量。每次微量提取一般需要 100-200 mg 植物叶片、或 50-100 mg 植物种子、或 200-500 mg 植物果实。 2. 样品破碎: <ol style="list-style-type: none"> 1) 匀浆法: 先将新鲜植物组织剪切成小块(保存在 RNA_{LOCKER} 中的植物组织需用纸吸去 RNA_{LOCKER} 液体后再剪切成小块), 放入 10-15 mL 塑料离心管中, 加入 1 mL 溶液 A, 然后用匀浆器匀浆 5-20 秒。匀 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

浆时会产生泡沫，但不影响提取效果。

- 2) 液氮研磨法（适用于复杂，易降解样品）：取适量新鲜植物组织放入含液氮的研钵中，迅速将组织研磨成粉末后，将粉末转移到合适的塑料离心管中，加入 1 mL 柱式植物 RNA 提取溶液 A，立即剧烈振荡 20 秒，充分混匀。

注意：溶解柱式植物 RNA 提取溶液 A 沉淀。柱式植物 RNA 提取溶液 A 在 4℃放置后可能会产生沉淀，使用前必须放在 65℃水浴使沉淀彻底溶解并充分摇匀后再取用。

3. 将匀浆物或液氮研磨物转移至干净的 1.5 mL 塑料离心管中(可以不必转移非液体的细胞碎片)。有的植物组织（比如果实）含有大量水份，匀浆液会多于 1 mL，转移时也只取 1 mL。
4. 在离心管中加入 0.3 mL 的柱式植物 RNA 提取溶液 B 和 0.2 mL 自备氯仿，在振荡器上振荡 30 秒混匀，此时溶液呈均匀的乳浊状。振荡器振荡时必须使管底溶液震荡起来。
5. 室温 12000-15000 g 离心 3-5 分钟，两相间将有约 5-10 毫米厚的细胞破碎物。
6. 将上清液(约 0.6 mL)转移到另一干净的 1.5 mL 塑料离心管中，下层有机相和中间层含有 DNA、蛋白质和其他杂质，避免触及或吸取。最好留下 100 μ L 上清液不取。
7. 加入等体积的柱式植物 RNA 提取溶液 C，充分颠倒混匀。如果有沉淀产生（对某些植物，属于正常现象），千万不要去掉沉淀，一定要把所有的混合物上柱。
8. 将一半的溶液（如果有沉淀，则先混匀）转移到离心吸附柱中，13000-15000 g 室温离心半分钟，弃穿透液。
9. 将剩下的一半溶液（如果有沉淀，则先混匀）转移到同一离心吸附柱中，13000-15000 g 室温离心半分钟，弃穿透液。
10. 加 0.7 mL 通用洗柱液，室温离心半分钟，弃穿透液。再加 0.3 mL 通用洗柱液，室温离心半分钟，弃穿透液。一般样品如此洗涤两次即可，但如果第 7 步加入柱式植物 RNA 提取溶液 C 后有沉淀产生，则需要洗三次，每次加入的通用洗涤液的量分别为 0.4、0.3 和 0.3 mL。
11. 室温离心半分钟。此步十分重要，否则残留的乙醇会影响 RNA 的使用。
12. 将离心吸附柱转移到 RNase-free 收集管中，加入 50-100 μ L RNA 洗脱液，室温放置 1-2 分钟。

| | |
|--------------------|---|
| | <p>13. 13000-15000 g 室温离心半分钟，离心管中溶液即为 RNA 样品，可以立即使用或存放于-80℃待用。</p> <p>14. RNA 完整性的电泳检测：如果需要做 Northern 杂交，强烈建议用户使用甲醛变性胶进行 RNA 电泳，因为非变性胶不能分离所有的 RNA 分子 (BioTechniques, 28: 414, 2000)。如果电泳发现 DNA 污染严重(跟样品相关) 建议使用含有 RNase-free DNase 处理步骤的柱式植物 RNAout 2.0 (CAT#:90404)，也可以另购膜结合 DNA 清除剂 (CAT#90904) 升级成柱式植物 RNAout 2.0。</p> <p>15. RNA 产量产率测定：将 5-10 μL RNA 溶于 TE 缓冲液中(pH7.5-8.2 之间)检测其在 OD260 的光吸收。通过光吸收可以得出 RNA 浓度(1 OD260 的 RNA=40 μg/mL),进而计算出 RNA 的产量(浓度 X 体积)和产率(RNA 产量/组织用量)。</p> <p>16. RNA 纯度测定：无污染的总 RNA 的 OD260/OD280 一般在 1.8-2.1 之间(具体数值与其碱基组成和溶液成分等多种因素有关)，高于此范围则分别表示样品可能有蛋白质污染，但一般不影响 RT-PCR 等反应。</p> |
| <p>关联产品</p> | <p>柱式植物 RNAout 2.0 (CAT#:90404)、膜结合 DNA 清除剂 (CAT#90904)</p> |