

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:90404-50

常温运输和保存，有 2 个低温成分

**TIANDZ**

# 柱式植物 RNAout 2.0

Column Plant RNAOUT 2.0

使用手册 V2.8

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](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>本产品是天泽基因柱式植物 RNA<sub>OUT</sub> (CAT#:71203) 与柱式 DNA 清除剂 (CAT#:90318) 整合后得到的升级产品, 它解决了提取的植物总 RNA 中出现基因组 DNA 污染这一难题, 提取的 RNA 通过 PCR 验证不含基因组 DNA 污染。该产品特点如下:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 操作简单快速, 处理一个样品只需要约十几分钟。</li> <li>2. RNA 纯度更高, 平均 OD<sub>260/280</sub> 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。</li> <li>3. 所提取 RNA 不含基因组 DNA 污染 (电泳及 PCR 均检测不到)。</li> <li>4. 得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、cDNA 合成等实验。</li> <li>5. 性价比高于进口的柱式植物 RNA 提取产品。</li> <li>6. 本试剂盒方法提取不到总 RNA 中的 miRNA。</li> </ol>																																
<p><b>规格及成分</b></p>	<table border="1" data-bbox="491 831 1358 1462"> <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<sub>OUT</sub> 溶液 A</td> <td>71203a</td> <td>50 mL</td> </tr> <tr> <td>柱式植物 RNA<sub>OUT</sub> 溶液 B</td> <td>71203b</td> <td>15 mL</td> </tr> <tr> <td>柱式植物 RNA<sub>OUT</sub> 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>100 mL</td> </tr> <tr> <td>DNase 膜反应液</td> <td>90404a</td> <td>2.5 mL</td> </tr> <tr> <td>RNase-free DNase (1U/uL)</td> <td>90903</td> <td>0.5 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>90404sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>			成份	编号	大纸盒包装	柱式植物 RNA <sub>OUT</sub> 溶液 A	71203a	50 mL	柱式植物 RNA <sub>OUT</sub> 溶液 B	71203b	15 mL	柱式植物 RNA <sub>OUT</sub> 溶液 C	71203c	50 mL	离心吸附柱	60911	50 套	通用洗柱液	60408	100 mL	DNase 膜反应液	90404a	2.5 mL	RNase-free DNase (1U/uL)	90903	0.5 mL	RNA 洗脱液	71207	10 mL	使用手册	90404sc	1 份
成份	编号	大纸盒包装																															
柱式植物 RNA <sub>OUT</sub> 溶液 A	71203a	50 mL																															
柱式植物 RNA <sub>OUT</sub> 溶液 B	71203b	15 mL																															
柱式植物 RNA <sub>OUT</sub> 溶液 C	71203c	50 mL																															
离心吸附柱	60911	50 套																															
通用洗柱液	60408	100 mL																															
DNase 膜反应液	90404a	2.5 mL																															
RNase-free DNase (1U/uL)	90903	0.5 mL																															
RNA 洗脱液	71207	10 mL																															
使用手册	90404sc	1 份																															
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>常温运输和保存, 但 RNase-free DNase 和 DNase 膜反应液需要 -20℃ 保存, 有效期一年</p>																																
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>氯仿</p>																																
<p><b>使用方法</b></p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>2. 样品破碎: <ol style="list-style-type: none"> <li>1) 匀浆法: 先将新鲜植物组织剪切成小块(保存在 RNA<sub>LOCKER</sub> 中的植物组织需用纸吸去 RNA<sub>LOCKER</sub> 液体后再剪切成小块), 放入 10-15 mL 塑料离心管中, 加入 1 mL 柱式植物 RNA<sub>OUT</sub> 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。</li> <li>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</li> </ol> </li> </ol>																																

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<sub>OUT</sub> 溶液 A，立即剧烈振荡 20 秒，充分混匀。

**注意：溶解柱式植物 RNA<sub>OUT</sub> 溶液 A 沉淀。如果把柱式植物 RNA<sub>OUT</sub> 溶液 A 放在 4℃ 放置，一段时间后可能会产生沉淀，此种情况下使用前必须放在 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<sub>OUT</sub> 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 rpm 离心 3-5 分钟，两相间将有约 5 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 uL 上清液不取。
7. 加入跟上清液等体积的柱式植物 RNA<sub>OUT</sub> 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. 将一半的混合液（含沉淀物，如果有的话）转移到离心吸附柱中，12000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。
9. 将剩下的一半的混合液（含沉淀物，如果有的话）转移到同一离心吸附柱中，12000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。
10. 加 0.7 mL 通用洗柱液，12000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。再加 0.3 mL 通用洗柱液，12000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。一般样品如此洗涤两次即可，但对于在第 7 步加入柱式植物 RNA<sub>OUT</sub> 溶液 C 后有沉淀产生的样品，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，其他操作不变。
11. 12000 rpm 室温离心 10 秒以便去除残留液体。此步很重要，否则残留的通用洗柱液会抑制后续反应中 DNase 的活性。
12. 将 10 uL (10 U) 的 RNase-free DNase 加入到 50 uL 37℃ 预热的 DNA 膜反应液中，吹打混匀配制成 DNase 工作液。
13. 将 DNase 工作液在 37℃ 预热 1 分钟，然后全部加入到离心吸附柱中，室

	<p>温放置 5 分钟。注意：5 分钟一般足够降解大多数情况下的 DNA 污染。</p> <p>如果 DNA 没有彻底降解（可能由于样品中残留的杂质抑制了 DNase 的活性），此步的保温时间可以适当延长到 10 分钟或 15 分钟。</p> <p>14. 直接在离心吸附柱中加 0.7 mL 通用洗柱液，盖上盖后颠倒数次混匀。</p> <p>15. 12000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。</p> <p>16. 再加 0.3 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中，12000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。</p> <p>17. 12000 rpm 室温离心半分钟。此步十分重要，否则残留的乙醇（通用洗柱液中的成分）会影响 RNA 的使用。</p> <p>18. 将离心吸附柱转移到 RNase-free 收集管中，加入 30-50 uL RNA 洗脱液，室温放置 1-2 分钟。</p> <p>19. 12000 rpm 室温离心半分钟，离心管中溶液即为 RNA 样品。本产品提供的离心吸附柱吸附力较强，一次洗脱不能全部将膜上 RNA 洗下，如有必要，可以再加入 30-50 uL RNA 洗脱液一次。</p> <p>20. 所得 RNA 溶液可以立即使用或存放于-80℃待用。如果要进行甲醛变性电泳检测。如果使用非变性胶电泳，则必须使用 RNAon 上样液。千万不能使用 DNA 上样液（因为它一般没经过去 RNase 处理）。</p>
<p><b>关联产品</b></p>	<p>mRNA 提取试剂盒 (CAT#:80817)</p>