

天
净
沙
系
列

CAT#:160907-50

常温运输，4℃保存（DNase 需要
-20℃保存）

TIANDZ

无酚无氯仿柱式植物 RNAOUT2.0

Phenol/Chloroform-free Column Plant RNAOUT2.0

使用手册 V1.1

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

产品及特点	本产品是无酚无氯仿柱式植物 RNA_{OUT}（CAT#: 160906）的升级产品。 经过配方和流程优化后，不仅不需要氯仿处理，还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： 1. 免酚和氯仿处理，操作安全可靠。 2. 简单快速，处理一个样品只需要约十分钟。 3. RNA 纯度更高，平均 OD260/280 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。 4. 目前已测试过上百种植物。 5. 得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、cDNA 合成等实验。 6. 性价比高于进口的柱式植物 RNA 提取产品。																												
规格及成分		<table><tr><th>成 份</th><th>编 号</th><th>50 次大纸盒包装</th></tr><tr><td>溶液 A</td><td>160907A</td><td>50 mL</td></tr><tr><td>溶液 B</td><td>160907B</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>膜反应液</td><td>90404E</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 colspan="2">1 份</td></tr></table>	成 份	编 号	50 次大纸盒包装	溶液 A	160907A	50 mL	溶液 B	160907B	50 mL	离心吸附柱	60911	50 套	通用洗柱液	60408	100 mL	膜反应液	90404E	2.5 mL	RNase-free DNase（1U/uL）	90903	0.5 mL	RNA 洗脱液	71207	10 mL	使用手册	1 份	
成 份	编 号	50 次大纸盒包装																											
溶液 A	160907A	50 mL																											
溶液 B	160907B	50 mL																											
离心吸附柱	60911	50 套																											
通用洗柱液	60408	100 mL																											
膜反应液	90404E	2.5 mL																											
RNase-free DNase（1U/uL）	90903	0.5 mL																											
RNA 洗脱液	71207	10 mL																											
使用手册	1 份																												
运输及保存	常温运输，4℃保存，DNase 低温运输保存，有效期一年。																												
自备试剂	无																												
使用方法	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： 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 溶液 A，立即剧烈振荡 20 秒，充分混匀。																												

注意：溶解溶液 A 沉淀。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. 室温 12000-15000 g 离心 3-5 分钟，管底沉淀为细胞破碎物。
5. 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。
6. 加入等体积的溶液 B，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。
7. 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。
8. 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。
9. 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，但如果在第 7 步加入溶液 B 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。
10. 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。
11. 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。
12. 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。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。
13. 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。
14. 12000 rpm 室温离心半分钟，弃穿透液。
15. 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。
16. 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。
17. 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。

	18. 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。 19. 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)。 20. 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)。 21. 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。
关联产品	无氯仿柱式动物 RNAout (CAT#:160905)、无酚无氯仿柱式植物 RNAout (CAT#:160906)