

天
净
沙
系
列

CAT#:160906-50
常温运输和保存

TIANDZ

无酚无氯仿柱式植物 RNA_{OUT}

Phenol/Chloroform-free 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

产品及特点	本产品是在柱式植物RNAout（CAT#: 71203）的基础上经过配方和流程优化得到的无氯仿升级产品，它结合了植物RNAout的高效性、快捷性以及无氯仿处理的安全性。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杂交和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>大纸盒包装</th></tr><tr><td>无酚无氯仿植物 RNA 提取溶液 A</td><td>160906a</td><td>50 mL</td></tr><tr><td>无酚无氯仿植物 RNA 提取溶液 B</td><td>160906b</td><td>50 mL</td></tr><tr><td>离心吸附柱（宽口）</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>160906sc</td><td>1 份</td></tr></table>	成 份	编 号	大纸盒包装	无酚无氯仿植物 RNA 提取溶液 A	160906a	50 mL	无酚无氯仿植物 RNA 提取溶液 B	160906b	50 mL	离心吸附柱（宽口）	60911	50 套	通用洗柱液	60408	50 mL	RNA 洗脱液	71207	10 mL	使用手册	160906sc	1 份		
成 份	编 号	大纸盒包装																							
无酚无氯仿植物 RNA 提取溶液 A	160906a	50 mL																							
无酚无氯仿植物 RNA 提取溶液 B	160906b	50 mL																							
离心吸附柱（宽口）	60911	50 套																							
通用洗柱液	60408	50 mL																							
RNA 洗脱液	71207	10 mL																							
使用手册	160906sc	1 份																							
运输及保存	常温运输和保存，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 50-100 mg 植物叶片、或 30-50mg 植物种子、或 100-200mg 植物果实。不能多加，否则容易堵柱。无氯仿提取处理的量比常规的加氯仿处理量要少一倍，否则非常容易堵柱，但是否堵柱又取决于植物组织的多糖多酚的浓度。 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 RNALOCKER 中的植物组织需用纸吸去 RNALOCKER 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：如果不小心将溶液 A 放置在 4℃，则可能会产生沉淀，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. 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 1 mL)转移到另一干净的 2 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 0.7mL 的混合溶液转移到离心吸附柱中，14000-15000 g 室温离心 3 到 5 分钟，弃穿透液。如果离心吸附柱里面有残留液体没穿透，可以延长离心时间直到彻底穿透。
8. 将剩下的混合溶液按每次 0.7mL 的方式转移到同一离心吸附柱中，每次 13000-15000 g 室温离心 3-5 分钟，弃穿透液。
9. 由于混合液有 2mL 左右，所以三次转移即可将混合液全部挂柱。
10. 加 0.7 mL 通用洗柱液，室温 13000-15000 g 离心半分钟，弃穿透液。如果离心吸附柱里面有残留液体没穿透，可以延长离心时间直到彻底穿透。
11. 再加 0.3 mL 通用洗柱液，室温 13000-15000 g 离心半分钟，弃穿透液。
12. 12000 rpm 室温离心 10 秒以便去除残留液体。此步很重要，否则残留的乙醇会影响 RNA 的使用。
13. 将离心吸附柱转移到 RNase-free 收集管中，加入 50-100 uL RNA 洗脱液，室温放置 1-2 分钟。
14. 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。
15. 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)。
16. RNA 产量产率测定：将 5-10 μ L 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 μ g/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)。
17. 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	无氯仿柱式植物 RNAout 2.0 (CAT#:160907)。