天净沙系列

CAT#:220433

常温运输及保存

天净沙

无酚无氯仿植物 RNA 提取试剂盒（过柱法）

Phenol/Chloroform-free Plant RNA Purification Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是在本公司过柱法植物 RNA 提取试剂盒的基础上经过配方和流程优化得到的无酚无氯仿升级产品，它结合了植物 RNA 提取试剂盒的高效性、快捷性以及无氯仿处理的安全性。本产品特点如下:

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. 本产品足够 50 次微量提取，每次可以处理 50-200 mg 植物材料。
7. 性价比高于进口的柱式植物 RNA 提取产品。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用大扁盒包装

成分	编号	规格	包装
无酚无氯仿植物 RNA 提取溶液 A	220433a	50 mL	60 mL 本色瓶
无酚无氯仿植物 RNA 提取溶液 B	220433b	50 mL	60 mL 本色瓶
离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋
通用洗柱液	220143	50 mL	60 mL 本色瓶
RNA 洗脱液	971207	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	220433sc	1 份	无

运输及保存

常温运输及保存，有效期一年。

自备试剂

无。

使用方法

注意：如果无酚无氯仿植物 RNA 提取溶液 A（以下简称溶液 A）低温下可能会产生沉淀，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。

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 30-50 mg 植物种子、或 100-200 mg 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. 匀浆法裂解样品:先将新鲜植物组织剪切成小块放入 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。

3. 或液氮研磨法裂解样品（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。
4. 将匀浆物或液氮研磨物转移至干净的 1.5mL 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。
5. 室温 15000×g 离心 3-5 分钟，管底沉淀为细胞破碎物。
6. 将上清液（约 1 mL）转移到另一干净的 2 mL 塑料离心管中。
7. 加入等体积的无酚无氯仿植物 RNA 提取溶液 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)，不必去掉沉淀，把所有的混合物上柱。
8. 将 0.7 mL 的混合溶液转移到离心吸附柱中，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。
9. 将剩下的混合溶液按每次 0.7 mL 的方式转移到同一离心吸附柱中，每次 15000×g 室温离心 3-5 分钟，弃穿透液。
10. 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。
11. 加 0.7 mL 通用洗柱液，室温 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。
12. 再加 0.3 mL 通用洗柱液，室温 15000×g 离心半分钟，弃穿透液。
13. 15000×g 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。
14. 将离心吸附柱转移到 RNase-free 收集管中，加入 50 μL RNA 洗脱液，室温放置 2 分钟。
15. 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。
16. 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。
17. RNA 产量产率测定：将 5-10μL 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×体积)和产率(RNA 产量/组织用量)。
18. 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	植物 RNA 提取试剂盒（过柱法，含 RNase-free DNase)

20230406jl