

Imagen®

GenePure Plantpoly RNA Maxi Kit
(Polysaccharides and Polyphenols Rich)
GenePure 多糖多酚大量植物 RNA 快速提取试剂盒

密码子生物科技有限公司
<http://www.codonix.com/>

CODONIX

RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

GenePure Plantpoly RNA Maxi Kit

(Polysaccharides and Polyphenols Rich)

GenePure 多糖多酚大量植物 RNA 快速提取试剂盒

目录号: RE124

目录编号	包装单位
RE124-01	10次

❖ 适用范围:

适用于快速大量提取植物组织细胞总RNA。

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	10 次
裂解液 LBT	室温	100 ml
去蛋白液 PRS	室温	60 ml
漂洗液 RB	室温	25 ml X 2 第一次使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml
PLA	室温	10 ml
RNase-free 吸附柱 AC 和收集管 CT	室温	10 套

本试剂盒在室温储存 6 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 所有的溶液应该是澄清的, 如果环境温度低时溶液可能形成沉淀, 此时不应该直接使用, 可在 37°C 水浴加热几分钟, 即可恢复澄清。
2. 不合适的储存于低温 (4°C 或者 -20°C) 会造成溶液沉淀, 影响使用效果, 因此运输和储存均在室温下 (15°C - 25°C) 进行。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ 产品介绍:

独特的裂解液/ β -巯基乙醇迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶, 植物 RNA 助提剂 PLA 帮助结合多糖多酚并通过离心去除, 然后用乙醇调节结合条件后, RNA 在高离子盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜, 再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤, 去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物, 蛋白等杂质去除, 最后低盐的 RNase free H₂O 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。

❖ 产品特点:

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用世界著名公司特制吸附膜, 柱与柱之间吸附量差异极小, 可重复性好。
2. 不需要使用有毒的苯酚, 氯仿等试剂, 也不需要乙醇沉淀等步骤。
3. 快速, 简捷, 单个样品操作一般可在 60 分钟内完成。
4. 独有的植物 RNA 助提剂可以有效结合多糖多酚, 提高清除效果。
5. 多次柱漂洗确保高纯度, OD₂₆₀/OD₂₈₀ 典型的比值达 1.9~2.0, 基本无 DNA 残留, 可用于 RT-PCR, Northern-blot 和各种实验。

❖ 注意事项

1. 所有的离心步骤均可在室温完成, 使用可容纳 50ml 离心管的离心机。
2. 需要自备乙醇, 一次性注射器 (可选), 研钵。

3. 裂解液LBT 和去蛋白液PRS中含有刺激性化合物,操作时要戴乳胶手套, **避免沾染皮肤, 眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 要用大量清水或者生理盐水冲洗。**
4. 关于DNA 的微量残留:

一般说来任何总 RNA 提取试剂在提取过程中无法完全避免 DNA 的微量残留,本公司的 GenePure 系列 RNA 提取产品, 由于采取了本公司独特的缓冲体系和选择了特殊吸附能力的吸附膜, 在大多数 RT-PCR 扩增过程中极其微量的 DNA 残留 (一般电泳 EB 染色紫外灯下观察不可见) 影响不是很大, 如果要进行严格的 mRNA 表达量分析如荧光定量 PCR,我们建议在模板和引物的选择时:

- 1) 选用跨内含子的引物,以穿过mRNA中的连接区,这样DNA就不能作为模板参与扩增反应。
 - 2) 选择基因组DNA和cDNA上扩增的产物大小不一样的引物对。
 - 3) 将RNA提取物用RNase-free的DNase I 处理。本试剂盒还可以用于DNase I处理后的RNA清洁(cleanup),请联系我们索取具体操作说明书。
 - 4) 在步骤去蛋白液PRS漂洗前,直接在吸附柱AC上进行DNase I处理。请联系我们索取具体操作说明书。
5. RNA 纯度及浓度检测:

完整性: RNA 可用普通琼脂糖凝胶电泳 (电泳条件: 胶浓度 1.2%; 0.5×TBE 电泳缓冲液: 150v, 15 分钟)检测完整性。由于细胞中 70%-80%的 RNA 为 rRNA, 电泳后 UV 下应能看到非常明显的 rRNA 条带。动物 rRNA 大小分别约为 5 kb 和 2kb, 分别相当于 28S 和 18S rRNA。动物 RNA 样品中最大 rRNA 亮度应为次大 rRNA 亮度的 1.5-2.0 倍, 否则表示 RNA 样品的降解。出现弥散片状或条带消失表明样品严重降解。

纯度: OD260/OD280 比值是衡量蛋白质污染程度的指标。高质量的 RNA, OD260/OD280 读数 (10mM Tris, pH7.5) 在 1.8-2.1 之间。OD260/OD280 读数受测定所用溶液的 pH 值影响。同一个 RNA 样品, 假定在 10mM Tris, pH7.5 溶液中测出的 OD260/OD280 读数 1.8-2.1 之间, 在水溶液中所测读数则可能在 1.5-1.9 之间, 但这并不表示 RNA 不纯。

浓度: 取一定量的 RNA 提取物, 用 RNase-free 水稀释 n 倍, 用 RNase-free 水将分光光度计调零, 取稀释液进行 OD260, OD280 测定, 按照以下公式进行 RNA 浓度的计算: 终浓度 (ng/μl) = (OD260) × (稀释倍数 n) × 40

❖ **操作步骤:** (实验前请先阅读注意事项)

提示:

⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 RB 瓶加入指定量无水乙醇!

1. 直接研磨法 (推荐):

a. 新鲜植物组织称重后取 1-2g 迅速剪成小块放入研钵 (冰冻保存或者液氮保存样品可直接称重后取 1-2g 放入研钵), 加入 **10 体积 (10ml) LBT** 和 **1 体积 (1ml) PLA** 室温下充分研磨成匀浆, 注意应该迅速研磨让组织和裂解液 LBT 立刻充分接触以抑制 RNA 酶活性。

注: PLA 是提取多糖多酚含量丰富的困难样品不可缺少成分。提取普通植物组织可以不加 PLA, RNA 产量可能会提高一些。

b. 将裂解物转入离心管, 剧烈摇晃振荡 15 秒, 10,000-13,000x g 离心 10 分钟 (如果离心机转速低, 可适当延长离心时间), 沉淀不能裂解的碎片和结合有多糖多

酚的 PLA，小心取**裂解物上清（需计算体积）**转到一个新离心管。

c. 加入上清体积一半的无水乙醇(**0.5 体积**)，此时可能出现沉淀,但是不影响提取过程,立即剧烈振荡混匀，不要离心。

d. 立刻接**操作步骤**项下 3。

2. 液氮研磨法:

a. 取 10ml 裂解液 LBT，转入 50ml 离心管中，加入 1ml PLA 混匀备用。

b. 液氮中研磨适量植物组织成细粉后，取 1-2g 细粉转入上述装有 LBT 和 PLA 的离心管，立即用手剧烈振荡 20 秒，充分裂解。

在 56℃ 温育 1-3 分钟有助于裂解植物,但是淀粉含量高的植物不能温育,因为提高的温度可能导致淀粉膨胀。

c. 用带钝针头的一次性 5ml(配 0.9mm 针头) 注射器抽打裂解物 10 次或直到得到满意匀浆结果(或者电动匀浆 30 秒),可以剪切 DNA,降低粘稠度和提高产量。

d. 将裂解物 10,000-13,000x g 离心 10 分钟,沉淀不能裂解的碎片和结合有多糖多酚的 PLA，将所有裂解物上清转到一个新离心管。

e. 较精确估计裂解物(上清)体积，加入 **0.5 体积**的无水乙醇,此时可能出现沉淀,但是不影响提取过程，立即剧烈振荡混匀，不要离心。

f. 立刻接**操作步骤**项下 3。

3. 将混合物加入一个吸附柱 AC 中，(吸附柱 AC 放入收集管 CT 中) 10,000-13,000x g 离心 5 分钟（确保全部通过，膜上无残留液体，否则应加大转速和时间），弃掉废液。

4. 加 6ml 去蛋白液 PRS，室温放置 1 分钟，12,000x g 离心 3 分钟，弃掉废液。

5. 加入 10ml 漂洗液 RB（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），10,000-13,000x g 离心 1-2 分钟，弃掉废液。加入 10ml 漂洗液 RB，重复一遍。

6. 将吸附柱 AC 放回空收集管 CT 中，13,000x g 离心 5 分钟以干燥膜基质残留乙醇，用枪头吸除内圈压环和柱壁之间可能残留的乙醇，室温或者烘箱晾干几分钟。

7. 取出吸附柱 AC，放入一个 RNase free 离心管中，根据预期 RNA 产量**在吸附膜的**

中间部位加 500 μ l -1ml RNase free **H₂O**（事先在 70-90 $^{\circ}$ C 水浴中加热效果更好），室温放置 3 分钟，12,000x g 离心 2 分钟。

8. 如果预期 RNA 产量>0.6mg，加 300-500 μ l RNase free **H₂O** 重复步骤 7，合并两次洗脱液，或者使用第一次的洗脱液加回到吸附柱重复步骤一遍(如果需要 RNA 浓度高)。

洗脱两遍的 RNA 洗脱液浓度高，分两次洗脱合并洗脱液的 RNA 产量比前者高 15-30%，但是浓度要低，用户根据需要选择。

密码子生物科技有限公司
<http://www.codonx.com/>

密码子生物科技有限公司
<http://www.codonx.com/>

CodonX(China) Biotechnology Co., Ltd

Yizhuang Biomedical Park
Building 6, No.88 6th Kechuang St. Economic-Technological Development Area, Beijing, China
Tel: 010-56315162 www.codonx.com

