

## 多糖/多酚植物总 RNA 提取试剂盒(gDNA 清除柱)

货号: NG3021S 50 次

试剂盒组成	保存	50 次
裂解液 PLS	室温	50 ml
裂解/结合液 RB	室温	25 ml
漂洗液 RE	室温	40 ml
漂洗液 RW	室温	10 ml
RNase-free water	室温	5 ml
基因组 DNA 清除柱和收集管	室温	50 套
RNase-free 吸附柱 RA 和收集管	室温	50 套

### 储存事项:

1. 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)。
2. 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:

本公司成功推出基因组 DNA 清除柱技术可以有效清除 gDNA 残留, 得到的 RNA 一般不需要 DNase 消化, 可用于反转录 PCR、荧光定量 PCR 等实验。独特的裂解液迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶, 离心沉淀去除多糖多酚和次级代谢产物, 然后裂解混合物用乙醇调节 RNA 结合吸附到基因组 DNA 清除柱, 然后 RNA 被选择性洗脱滤过, 吸附在基因组 DNA 清除柱上的残留 DNA 无法洗脱连同柱子一起丢弃从而清除掉 DNA。滤过的 RNA 用乙醇调节结合条件后, RNA 在高离序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, 将细胞代谢物, 蛋白等杂质去除, 最后低盐的 RNase free water 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。

### 产品特点:

1. 完全不使用有毒的苯酚, 氯仿等试剂, 也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 简捷, 单个样品操作一般可在 25 分钟内完成, 世界上最简单快速的试剂盒。
3. 独家研发成功基因组 DNA 清除柱技术可以有效清除 gDNA 残留, 得到的 RNA 一般不需要 DNase 消化, 可用于反转录 PCR、荧光定量 PCR 等实验。
4. 多次柱漂洗确保高纯度, OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 典型的比值高达 2.1 ~ 2.2, 基本无 DNA 残留, 可用于 RT-PCR, Northern-blot, 二代测序和各种实验。

### 注意事项:

1. 所有的离心步骤均可在室温完成 (4°C 离心也可以)
2. 需要自备 β-巯基乙醇, 乙醇, 研钵(可选)。

3. 样品处理量绝对不要超过基因组清除柱和RNA吸附柱RA处理能力，否则造成DNA残留或产量降低。开始摸索实验条件时，如果不清楚样品DNA/RNA含量时可使用较少的样品处理量，将来根据样品试验情况增加或者减少处理量。
4. 裂解液PLS和裂解/结合液RB 和漂洗液RE中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，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。
5. 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（DNase消化也无法做到100%无残留），由于采取了本公司独特的缓冲体系和基因组DNA清除柱技术，绝大多数DNA已经被清除，不需要DNase消化，可直接用于反转录PCR和荧光定量PCR。
6. **个别特殊情况如DNA含量过于丰富造成残留，将RNA提取物用RNase-free的DNase I 处理以提高效果**

HLINGENE

## 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 RW 瓶加入指定量无水乙醇!
- ⇒ 取 1ml 裂解液 PLS 至离心管内(如果 PLS 有析出或者沉淀需先置于 65°C 水浴重新溶解)，在裂解液 PLS 中加入 5% β-巯基乙醇 (1mlPLS 加 50μl β-巯基乙醇)。颠倒混匀后 65°C 水浴中预热。多个样品按照比例放大准备。**β-巯基乙醇是裂解液 PLS 的关键成分，必要的时候可以提高终浓度到 10-20%。**

**如果特别复杂植物，可以尝试在裂解液中加入 PVP40 至终浓度 2%。**

- a. 液氮中研磨新鲜或-70°C 冷冻的材料至细粉。
  - b. 转移 100mg-200mg 细粉 (水分少的样品如叶片种子等可加 100mg-150mg, 水分多的样品如草莓西瓜果实可多加一些) 加至预热的裂解液 PLS (已加有β-巯基乙醇) 离心管中。立即剧烈涡旋 30-60 秒或者用吸头吹打混匀裂解直得到满意匀浆结果(或者电动匀浆 30 秒)，可以剪切 DNA，降低粘稠度和提高产量。
  - c. 短时放回 65°C 水浴中 (5-10 min)，中间偶尔颠倒 1-2 次帮助裂解。
  - d. 将裂解物 12,000 rpm 离心 10 分钟，沉淀不能裂解的碎片。
  - e. **取裂解物上清 (在不超过基因组 DNA 清除柱能力的情况下可以取更多的上清，这样可以提高产量)** 转到一个新离心管。加入上清体积一半的无水乙醇(1/2 体积)，此时可能出现沉淀，但是不影响提取过程，立即吹打混匀，不要离心。**若上清表面有漂浮物，用吸头挑开吸取下面液体即可。**
  - f. 立刻接**操作步骤**的步骤 1。
1. 将混合物(每次小于 700μl，多可以分两次加入)加入一个基因组清除柱中，(清除柱放入收集管中) 12,000 rpm 离心 2 分钟，弃掉废液。

**确保离心后液体全部滤过去，膜上没有残留，如有必要，可以加大离心力和离心时间。**

2. 将基因组 DNA 清除柱子放在一个干净 2ml 离心管内，在基因组清除柱内加 500μl 裂解/结合液 RB，12,000 rpm 离心 30 秒，收集滤液 (RNA 在滤液中)，用微量移液器较精确估计滤过液体积 (通常为 500μl 左右，滤过时候损失体积应该减去)，加入 1/2 倍体积的无水乙醇，此时可能出现沉淀，但是不影响提取过程，立即吹打混匀，不要离心。
3. 立刻将混合物(每次小于 700μl，多可以分两次加入)加入一个吸附柱 RA 中，(吸附柱放入收集管中) 12,000 rpm 离心 2 分钟，弃掉废液。**确保离心后液体全部滤过去，膜上没有残留，如有必要，可以加大离心力和离心时间。**
4. 加入 700μl 漂洗液 RE，室温放置 1 分钟，13,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
5. 加入 500μl 漂洗液 RW (请先检查是否已加入无水乙醇!)，12,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。加入 500μl 漂洗液 RW，重复一遍。
6. 将吸附柱 RA 放回空收集管中，12,000 rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
7. 取出吸附柱 RA，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 30-50μl RNase free

water (事先在 65°C水浴中加热可提高产量)， 室温放置 1 分钟， 12,000 rpm 离心 1 分钟。

HLINGENE