

M5 PLANTpure 通用植物总 RNA 快速提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 PLANTpure 通用植物总 RNA 快速提取试剂盒	50T	MF456-01

【储存条件】

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。裂解液 RL 可以常温运输，收到后 4℃ 避光可长期保存。

【产品简介】

改进的异硫氰酸胍/酚一步法 (TRIzol 法) 裂解细胞和灭活 RNA 酶，然后总 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 water 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特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。
2. 结合了异硫氰酸胍/酚一步法试剂稳定性好，纯度高和离心柱方便快捷的优点，不需要异丙醇沉淀和乙醇洗涤过程，RNA 可以直接从离心柱上洗脱避免了过度干燥不易溶解问题。
3. 独有的 RL 裂解液配方，可以有效的消除基因组污染。
4. 多次漂洗去蛋白过程，提取 RNA 纯度更高。
5. 有效的去除了 5S 在总 RNA 中含量，提高了纯度。

【产品组份】

	50T	注意事项
裂解液 RL	50ml	室温密闭干燥保存
去蛋白液 RE	25ml	室温密闭干燥保存
漂洗液 RW	10ml	初次使用前请按瓶标说明加入指定量的无水乙醇
RNase-Free H ₂ O	10ml	室温密闭干燥保存
RNase-Free 吸附套管(RA)	50 套	室温密闭干燥保存

【注意事项】

1. 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶中加入指定量乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入!
2. 本试剂盒抑制 RNA 酶效果极佳，所有离心步骤如未加说明，均可在常温进行。
3. 裂解液 RL 和去蛋白液 RE 中含有刺激性有害化合物，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. 考虑到环保问题，本试剂盒不含有实验室常用试剂氯仿，使用前需要自备氯仿。
5. 常规的琼脂糖凝胶电泳和变性胶电泳均可以用来分析 RNA 的质量。好的 RNA 产物在电泳后应该可以看到明显的二条优势核糖体 RNA 带，分别为~2Kb (28S)，~1Kb (18S)，条带亮度比值约为 2: 1。有时候也可以看到~0.1kb 和 0.3Kb(5S, tRNA)带。但有时候根据不同的物种如某些植物组织可以看到 4, 5 条带也属于正常现象，如果 RNA 未成熟的前体或者不均一核 RNA、小核 RNA 提取出来也可能看到介于 7Kb 和 15Kb 之间的不连续的高分子量条带。
6. 检测 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 吸光度比值时，如需稀释 RNA 样品应该用 TE (PH 8)，如果用水稀释后检测，由于一般水离子强度和 PH 值低，会使 OD₂₈₀ 升高，从而使比值降低。
7. 加入裂解液 RL 匀浆后，加氯仿前，样品可在 -60℃-70℃ 保存一个月以上。

【操作步骤】

1. 取 1ml 裂解液 RL，转入 1.5ml 离心管中，备用。
 2. 液氮中研磨适量植物组织成细粉后，取 60-100mg 细粉转入上述装有 RL 的离心管，立即用手剧烈振荡 20 秒充分裂解（可以手动或者电动匀浆提高产量）。
 3. 将匀浆样品剧烈震荡混匀，在 15 -30°C 条件下孵育 5 分钟以使核蛋白体完全分解。
 4. **可选步骤（一般不需要）**：12,000rpm 离心 10 分钟，小心取上清转入一个新的 RNase free 的离心管中。当样品富含多糖或是植物的块茎部分时可能需要此额外的分离步骤。
 5. 每 1mlRL 加 0.2ml 氯仿。盖紧样品管盖，剧烈振荡 15 秒并将其在室温下孵育 3 分钟。
 6. 于 4°C 12,000rpm 离心 10 分钟，样品会分成三层：下层有机相，中间层和上层无色的水相，RNA 存在于水相中。水相层的容量大约为所加 RL 体积的 50%，把水相转移到新管中，进行下一步操作。
 7. 加入水相体积一半也就是 0.5 倍体积的无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀）。得到的溶液和可能沉淀一起转入吸附柱 RA 中（吸附柱套在收集管内，若一次不能将全部溶液和混合物加入吸附柱 RA 中，请分两次转入吸附柱 RA 中）。
 8. 12,000rpm 离心 45 秒，弃废液，将吸附柱重新套回收集管。
 9. 加 500µl 去蛋白液 RE，12,000rpm 离心 45 秒，弃掉废液。
 10. 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 45 秒，弃掉废液。
 11. 重复步骤 10 一次。
 12. 将吸附柱 RA 放回空收集管中，13,000 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。
 13. 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 50-80µl RNase free water，室温放置 2 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟。如果需要较多 RNA，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，离心 1 分钟，或者另外再加 30µl RNase free water，离心 1 分钟，合并两次洗脱液。
- 洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要 RNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积最好不少于 30µl，体积过小降低 RNA 洗脱效率，减少 RNA 产量。**

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。