

## DiSpin 通用植物 RNA 快速提取试剂盒

货号: DP226-01

规格: 50 次

保存: 15-25°C

### 【产品简介】

本产品独特的裂解液迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶, 在乙醇调节结合条件下 RNA 在高盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜, DNase 直接在柱上消化残留 DNA, 通过漂洗和离心的步骤, 去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物, 蛋白等杂质去除, 在低盐 RNase free H<sub>2</sub>O 的洗脱下得到纯净的 RNA。

### 【产品组分】

货号	组分	体积
DP226-101	裂解液 RPA	50 ml
DP226-102	去蛋白液 RW1	40 ml
DP226-103	漂洗液 RW (首次使用前按说明加入乙醇)	10 ml
DP226-104	RNase-free Water	10ml
DP226-105	DNase Buffer	1.25 ml x2
DP226-106	RNase-free DNaseI	0.25ml
DP226-107	吸附柱 RA 和收集管 (RNase-free)	50 套

### 【保存条件】

不同组分按照说明保存, 保质期一年。

### 【产品特点】

1. 不需要使用  $\beta$ -巯基乙醇、苯酚、氯仿, 也无需乙醇沉淀。
2. 快速, 简捷, 单个样品操作 40 分钟内完成。
3. 适应范围广, 可以提取包括水稻、玉米、小麦、拟南芥、番茄、烟草和一般多糖多酚如棉花、冬青等植物。
4. 多次柱漂洗确保高纯度, OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值达 2.0-2.2, 配套 DNase I 柱上消化得到的 RNA 不残留 DNase 消化, 可直接用于反转录 荧光定量 PCR、二代测序、芯片、RACE、Northern-blot 等实验。

### 【注意事项】

1. 所有的离心步骤均在室温完成, 使用转速可以达到 13,000 rpm 的离心机。
2. 需要自备乙醇。
3. 裂解液 RPA 和去蛋白液 RW1 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。

### 【使用方法】

第一次使用前请先在漂洗液 RW 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 100-200mg 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 100-200mg 放入研钵), 加入 1 ml 裂解液 RPA 室温下充分研磨成匀浆, 注意迅速研磨让组织和裂解液 RPA 立刻充分接触以抑制 RNA 酶活性。
- b. 将裂解物转入离心管, 剧烈摇晃振荡 15 秒, 13,000rpm 离心 5-10 分钟, 沉淀不能裂解的碎片。

- c. 取 480 $\mu$ l 裂解物上清（在不超过 RNA 吸附柱能力的情况下可以取更多或者全部上清，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(0.5 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。
- d. 立刻接操作步骤的步骤 3。

## 2. 液氮研磨法:

- a. 取 500 $\mu$ l 裂解液 RPA，转入 1.5ml 离心管中。
- b. 液氮中研磨适量植物组织成细粉后，取 50-100mg 细粉转入上述装有 RPA 的离心管，立即用手剧烈振荡 20 秒，充分裂解。
- c. 用吸头吹打混匀帮助裂解或者剧烈涡旋震荡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 13,000 rpm 离心 5-10 分钟，沉淀不能裂解的碎片。
- e. 取裂解物上清（在不超过 RNA 吸附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(0.5 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。
- f. 立刻接操作步骤的步骤 3。

**注意：以上液氮研磨法用户可以根据需要加倍处理，可以提高产量。也就是使用 1ml 的裂解液 RPA 和 100-200mg 的样品。**

- 3. 将混合物(每次小于 720 $\mu$ l，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）13,000 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 350 $\mu$ l 去蛋白液 RW1，室温放置 1 分钟，13,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
- 5. DNase I 工作液配制：取 45 $\mu$ l DNase I buffer 和 5 $\mu$ l RNase free DNase I 在离心管轻轻吹打混匀成工作液（处理多个离心柱子要按照比例放大制备工作液）。
- 6. 向吸附柱 RA 中央加入 50 $\mu$ l 的 DNase I 工作液，室温（20-30 $^{\circ}$ C）放置 15 分钟。注意直接将工作液滴在膜中央上，不要让工作液滴在 O 型圈或是离心柱管壁上。
- 7. 向吸附柱 RA 中加入 350 $\mu$ l 去蛋白液 RW1，12,000 rpm 离心 30 秒，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
- 8. 加入 500 $\mu$ l 漂洗液 RW（请先检查是否已加入无水乙醇），13,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。加入 500 $\mu$ l 漂洗液 RW，重复一遍。
- 9. 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。
- 10. 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 30-50 $\mu$ l RNase free water(事先在 70-90 $^{\circ}$ 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。
- 11. 如果预期 RNA 产量>30 $\mu$ g，加 30-50 $\mu$ l RNase free water 重复步骤 10，合并两次洗液，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 RNA 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。**

**注意：**如果不需要做荧光定量 PCR，仅仅做普通的反转录，克隆基因片段，可以省略 DNA 酶柱上消化的步骤，具体就是第 4 步骤的“加 350 $\mu$ l 去蛋白液 RW1”改成“加 700 $\mu$ l 去蛋白液 RW1”，同时省略步骤 5，6，7。

## 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，承诺为您更换等量合格产品，本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。