

Trelief® Hi-Pure Plant RNA Kit

Hi-Pure植物总RNA提取试剂盒(双柱型)

目录号

TSP0201

产品简介

本产品适用于从常规植物组织中快速提取总RNA。产品基于硅胶柱纯化技术,提取过程无需使用有毒的酚/氯仿试剂,可同时处理大量不同样品。并采用DNA过滤技术,可高效快速地过滤去除DNA,提取所得的总RNA纯度高,可用于RT-PCR、Real Time RT-PCR、芯片分析、Northern Blot等多种下游实验。

产品组成

组分	规格(50次)
Buffer RL	30 mL
Buffer RW1	40 mL
Buffer RW2	12 mL
RNase-Free ddH ₂ O	15 mL
gDNA过滤柱(含2 mL收集管)	50 套
RNA 吸附柱(含2 mL收集管)	50 套
RNase-Free 1.5 mL离心管	50 个

产品应用

本产品适用于从常规植物组织中快速提取总RNA。

注意事项及准备

- 1.使用之前,向Buffer RW2中加入48 mL无水乙醇。
- 2.如Buffer RL和Buffer RW1有沉淀析出,置于37°C水浴溶解即可正常使用。

使用方法

1. 取50~100 mg植物样品于液氮中迅速研磨成粉末,加入500 μL Buffer RL,立即震荡混匀,12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min。
2. 将上清液转移至gDNA过滤柱(过滤柱放在收集管中),12,000 rpm(~13,400×g)离心1 min,吸取滤液至新的离心管中,吸头尽量避免接触收集管中的细胞碎片。
3. 加入0.5倍滤液体积的无水乙醇(通常为225 μL),吹打混匀。将混合物全部转移至RNA吸附柱,12,000 rpm(~13,400×g)离心30~60 s。

注:此过程可能出现沉淀,吹打混匀后,将全部混合物转移至吸附柱中。

4. 弃废液,将吸附柱放回收集管中。向吸附柱中加入500 μL Buffer RW1,12,000 rpm(~13,400×g)离心30~60 s。
 5. 弃废液,将吸附柱放回收集管中。加入500 μL Buffer RW2(请检查是否已添加无水乙醇),12,000 rpm(~13,400×g)离心30~60 s。
 6. 重复步骤5。
 7. 弃废液,将吸附柱放回收集管中。12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min,弃废液,将吸附柱开盖室温放置数分钟,以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
 8. 将吸附柱放入一个新的RNase-Free离心管中,向吸附膜中心部位悬空滴加30~100 μL RNase-Free ddH₂O,室温放置2~5 min,12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min,得到RNA溶液。提取的RNA可直接用于下游实验或于-80°C保存。
- 注:将RNase-Free ddH₂O于65°C预热或将第一次洗脱液重新加入吸附柱进行二次洗脱均可帮助提高RNA得率。**

■ 保存条件

室温(15~25°C)保存,保质期1年。

注:Buffer RW2加入无水乙醇后可保存6个月。

■ 常见问题及解决方案

1. 样本量选择

对于水分含量多的样本如番茄、黄瓜果实等,可适当增加样本量;对于一些淀粉或糖含量高的如花瓣等,可适当减少样品量。由于植物多样性丰富,而且同种植物的不同生长发育阶段和不同组织部位的RNA,含量都不相同,请根据实验情况选择合适的植物材料用量。

2. DNA污染

本产品可去除体系中绝大部分的DNA污染,纯化获得的RNA通常可直接用于下游实验。但不同样本核酸含量相差较大,如果下游实验对痕量DNA十分敏感,可以使用DNase I进一步清除DNA污染。

3. 裂解问题

1) 植物组织裂解是否充分会直接影响到RNA的质量和产量,应尽可能采用新鲜的植物组织。

2) 若采集的样品不能及时进行提取,可以将新鲜采集的样品置于液氮中速冻后放入-80°C保存,且避免反复冻融。

3) 在研磨和匀浆时尽量控制温度,防止因研磨匀浆过程中产生的热量导致RNA降解。

■ RNA产物完整度及纯度检测

1. RNA产物完整度检测

RNA可用普通琼脂糖凝胶电泳检测完整度。如果28S和18S条带明亮、清晰、条带锐利(条带的边缘清晰),并且28S的亮度在18S条带的两倍以上,可以认

为RNA的质量较好,否则表示RNA出现降解。若出现弥散片状或条带消失表明RNA严重降解。

2. RNA产物纯度检测

A_{260}	核酸最大吸收峰
A_{280}	蛋白质最大吸收峰
A_{230}	其他杂质(多糖、胍盐等)吸收峰

当 $1.8 < A_{260}/A_{280} < 2.1$ 时,表明RNA较纯且没有蛋白质污染;

当 $A_{260}/A_{280} > 2.2$ 时,表明RNA已水解为单核苷酸。

■ 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议,欢迎随时与我们联系:

product@tsingke.com.cn。

■ 关联产品推荐

系列	产品名称	货号	规格
核酸提取系列	Trelief® Hi-Pure Plant Genomic DNA Kit 高效植物基因组DNA提取试剂盒	TSP102-50	50次
	Trelief® Hi-Pure Plant RNA Plus Kit (Polysaccharides & Polyphenolics-rich) Hi-Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒 (双柱型)	TSP0202	50次
反转录系列	SynScript® III RT SuperMix for qPCR (+gDNA Remover)	TSK314M	100次
荧光定量系列	ArtiCan ^{CEO} SYBR qPCR Mix	TSE401	5×1 mL
	ArtiCan ^{ATM} SYBR qPCR Mix	TSE501	5×1 mL

