

一般实验室使用，仅用于**体外**

通用植物RNA抽提试剂

用于富含多糖、多酚植物总RNA抽提

目录号： **RP3321 (50ml)** **RP3322 (100ml)**

使用手册

2015年1月



北京百泰克生物技术有限公司
BioTeke Corporation

地 址：北京市留学人员创业园

电 话：010-62951781

网 址：www.bioteke.com

传 真：010-62951781

Email: info@bioteke.com



北京百泰克生物技术有限公司
Bioteke Corporation

目 录

一、原理简介.....	1
二、注意事项.....	1
三、操作步骤.....	2
四、疑难解答.....	3

通用植物 RNA 抽提试剂

一. 产品简介:

通用植物抽提试剂可从植物组织，特别是富含多糖、多酚或淀粉的植物组织中（如葡萄、苹果、香蕉、植物种子、樱桃、松针等），提取高纯度的总 RNA。每 50ml 可处理 100mg 组织 50 次。

保存条件: 室温或 4℃ 保存 12 个月。

二. 预防 RNase 污染，应注意以下几方面:

1. 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致 RNase 污染。
2. 使用灭过菌的塑料制品和枪头避免交叉污染。
3. RNA 在抽提试剂中时不会被 RNase 污染。但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在 150℃ 烘烤 4 小时，塑料器皿可在 0.5M NaOH 中浸泡 10 分钟，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除 RNase。
4. 配制溶液应使用 RNase free 的水。（将水加入处理过不含 RNase 的玻璃瓶中，加入 DEPC 至终浓度 0.1%v/v，放置过夜，高压灭菌）。

准备试剂: 液氮，研钵，RNase free 离心管，水饱和酚：氯仿：异戊醇（25：24：1），异丙醇，75%乙醇，RNase free 水。

三. 操作步骤: (样品<0.1g , 使用小规模提取方法):

事先将抽提试剂加入 1%β-巯基乙醇, 65℃ 预热。

1. 匀浆处理

取100mg植物组织于液氮中研磨, 时间要短, 要保持研钵中有液氮(如果没有液氮也可以直接加1ml的抽提试剂后匀浆。组织样品体积不能超过抽提试剂体积的10%)。

2. 转移样品至 1.5ml RNase free 离心管中, 加入 1ml 的抽提试剂涡旋振荡混匀, 在 65℃ 条件下孵育 5 分钟以使核蛋白体完全分解。

3. 室温条件下 12,000rpm 离心 10 分钟, 小心取上清转入一个新的 2ml RNase free 离心管中(若上清表面有漂浮物, 用枪头跳开吸取下面液体即可)。加入等体积的水饱和酚: 氯仿: 异戊醇 (25: 24: 1), 涡旋混匀, 室温放置 2min。

4. 室温条件下 12,000rpm 离心 5 分钟。取上清转入一个新的 2ml RNase free 离心管中, 加入等体积的水饱和酚: 氯仿: 异戊醇 (25: 24: 1), 涡旋混匀, 室温放置 2min。

5. 上清转入一个新的 2ml RNase free 离心管中, 加入等体积异丙醇, 颠倒混匀, 室温放置 5 分钟。室温条件下 12,000rpm 离心 5 分钟。

6. 弃上清, 加入 1ml 75%乙醇混匀, 室温条件下 12,000rpm 离心 5 分钟。弃上清。

简单干燥 RNA 沉淀 (空气干燥或真空干燥 5~10 分钟) 不要在真空管里离心干燥 RNA。尤为重要的是, 不能让 RNA 沉淀完全干燥那样会极大地降低它的可溶性。用移液管尖分几次移取无 RNA 酶的水或 0.5%SDS 溶液来溶解 RNA, 并在 55~60℃ 下孵育 10 分钟(当 RNA 以后要用于酶切反应时, 避免使用 SDS。)

四. 常见问题及解决办法:

问题	原因	解决方法
RNA 得率低	样品研磨不充分 样品未与试剂充分混合 样品 RNA 含量少	将样品充分研磨成粉末 充分振荡, 彻底混合样品 每 ml 提取液加 1μl 核酸助沉剂 有助 RNA 沉淀
RNA 降解	样品储存方法不当 加入试剂前样品已解冻	样品收集后或需长期保存时应置于 -70℃ 样品应一直保持 -70℃ 直至加入试剂并悬浮
A ₂₆₀ /A ₂₈₀ 比率低	RNA 溶于水	将 RNA 溶于 10mM Tris-HCl (pH7.5) 进行紫外检测