

A&DPure 植物总 RNA 试剂盒说明书

产品组成

A&DPure 植物总 RNA 试剂盒-无 DNase I	5 次样品	50 次制备
Cat. No.	A-5101005	A-5101050
过滤柱	5 套	50 套
核酸纯化柱	5 套	50 套
Buffer RLC	4 ml	32 ml
Buffer WA	1.9 ml	12 ml
Buffer WBR	1.5 ml	9.5 ml
RNase-Free Water	1.5ml	2 ml×3
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

试剂盒如果储存于室温（15~25℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: tech@aderr.com 电话：010-57225208。

产品介绍

本产品不涉及酚氯仿的使用，适合从 50~100 mg 植物中分离纯化总 RNA。植物组织经裂解液溶解并释放 RNA，补加乙醇后加入纯化柱，RNA 结合在纯化柱上，溶解的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去。RNA 经两种洗液洗涤后，用 RNase-Free Water 洗脱，即可用于 RT-PCR，Northern blot，Dot blot，mRNA 分离等各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 14.3 M β-巯基乙醇（液态纯 β-mercaptoethanol）、无水乙醇和 70% 乙醇。
2. RNase-free 1.5ml 离心管
3. 移液器及吸头（为避免 RNA 酶的污染，建议选用含有滤芯的 RNase-free 移液器吸头）
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）
6. 旋涡震荡器
7. 无 RNA 酶使用的实验室

使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
- 2) 每 1ml Buffer RLC 中加入 10μl 14.3 M β-巯基乙醇，混合均匀。加入 β-巯基乙醇的 Buffer RLC 一个月内使用不影响实验结果。
- 3) 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。
- 4) 因为唾液、皮肤上均含有 RNA 酶，所以 RNA 的提取的全过程都需要戴乳胶手套和口罩。

操作步骤：

1. 在研钵中加入约300~500 mg植物组织和液氮，将组织研磨至粉末状，再用液氮预冷的1.5 ml 离心管称取50~100 mg研磨成粉末状的组织。

- * 研磨组织时应及时补加液氮，避免组织融化，以免内源性的RNA酶恢复活性而降解RNA。
- * 勿使用超过100 mg组织，否则可能导致过滤柱堵塞，并使纯化的RNA中混有基因组DNA污染。
- * Buffer RLC具腐蚀性，请戴防护用品进行操作。

2. 加入600 μl 已加入β-巯基乙醇的Buffer RLC，旋涡振荡直至组织全部溶解。

3. 将组织的溶解物全部转移到过滤柱中，盖上管盖，13000 rpm 离心2分钟。

- * 勿省略本步骤，否则可能导致后续的操作步骤中堵塞纯化柱。
- * 如果溶解物不能全部滤过过滤柱，说明组织中核酸含量过高。此时应吸取300 μl滤液转移到一个洁净的1.5 ml 离心管中，再加300 μl 70%乙醇到1.5 ml 离心管中并用吸头吸注6-8次混合均匀，然后将全部混合液加入到核酸纯化柱中，盖上管盖，13000 rpm 离心1分钟。过滤柱及残余的滤液则丢弃不用，然后直接进入步骤6的操作。

4. 弃过滤柱，向滤液中加入600 μl 70%乙醇并直接用吸头吸注6~8次混合均匀，吸取600 μl混合液加入到核酸纯化柱中，盖上管盖，13000 rpm 离心1分钟。

- * 加入70%乙醇混合后如果有沉淀产生，请将沉淀一起加入到核酸纯化柱中。

5. 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 离心管中，吸取剩余的混合液加入到核酸纯化柱中，13000 rpm 离心1分钟。

- * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

6. 弃2ml 离心管中的滤液，在核酸纯化柱中加入500 μl Buffer WA，盖上管盖，13000 rpm 离心1分钟。

- * 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

7. 弃2ml 离心管中的滤液，在核酸纯化柱中加入600 μl Buffer WBR，盖上管盖，13000 rpm 离心1分钟。

- * 确认在 Buffer WBR 中已经加入无水乙醇。

8. 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 离心管中，14000 rpm 离心1分钟。

- * 如果离心机的离心速度达不到14000 rpm，则用最高速离心2分钟。
- * 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的RT-PCR效果。

9. 弃2ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的RNase-free的1.5ml离心管中，在纯化柱的膜中央加入50~100 μl RNase-Free Water，盖上管盖，室温静置1分钟，13000 rpm 离心1分钟。

- * 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为8000 rpm 离心1分钟，以免1.5ml离心管管盖脱落而损伤离心机。

10. 弃纯化柱，洗脱的RNA可立即用于各种分子生物学实验；或者将RNA储存于-70℃备用。 * 即使电泳检测观察不到DNA条带，也不应认为纯化的RNA中不含基因组DNA污染，如需要彻底除去DNA，请用不含RNA酶的DNase I 消化残留的DNA。