

AipEasy 通用植物 RNA 快速提取试剂盒,带 DNase I(离心柱型)
AipEasy Universal Plant RNA Rapid Extraction Kit,With DNase I(Centrifugal Column)

使用说明书

◆目录号: RE211

◆试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次(RE211-01)
裂解液 RPA	室温	50mL
去蛋白液 RW1	室温	40mL
漂洗液 RW	室温	10mL 第一次使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free Water	室温	10mL
DNase Buffer	-20°C	1.25mL* 2
RNase-free DNase I	-20°C	0.25mL
吸附柱 RA 和 2mL 收集管 (RNase-free)	室温	50 套

◆储存条件: 本试剂盒按照各成份指示储存 12 个月不影响使用效果。

◆储存事项:

1. 常温成份不合适的储存于低温(4°C或者-20°C)会造成溶液沉淀,影响使用效果,因此运输和储存均在室温下(15°C-25°C)进行。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化,各溶液使用后应及时盖紧盖子。

◆产品介绍: 独特的裂解液迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶,然后用乙醇调节结合条件后, RNA 在高离子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,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. 完全不使用有毒的 β -巯基乙醇/苯酚/氯仿,也不需要乙醇沉淀等步骤。

2. 方便简捷，单个样品操作一般可在 40 分钟内完成，是目前世界上最简单快速的试剂盒。
3. 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 等实验。
4. 世界领先，是同类产品中适应性广泛的试剂盒，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。
5. 多次柱漂洗确保高纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 典型的比值达 2.0~2.2，无 DNA 残留，可直接用于荧光定量 PCR、RT-PCR、芯片、二代测序、Northern-blot 等各种实验。

◆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 的传统台式离心机。
2. 需要自备乙醇，研钵(可选)。
3. 裂解液 RPA 和去蛋白液 RW1 中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，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。

◆操作步骤(实验前请先阅读注意事项)：

提示：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)：

- 1) 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 1mL 裂解液 RPA 室温下充分研磨成匀浆，注意应该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。
- 2) 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。
- 3) 取 480μL 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。
- 4) 立刻接操作步骤的步骤 3。

2. 液氮研磨法：

- 1) 取 500μL 裂解液 RPA，转入 1.5mL 离心管中。
- 2) 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。
- 3) 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。

- 4) 将裂解物 13,000 rpm 离心 5-10 分钟, 沉淀不能裂解的碎片。
- 5) 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。
- 6) 立刻接操作步骤的步骤 3。

注 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 μ 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。

注 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 μ 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 μ L DNase buffer 和 5 μ 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)。

注 DNase Buffer 含 Mn^{2+} , 可能有轻度发黄发黑, 甚至黑色沉淀为正常现象, 颠倒混匀后正常使用即可。

6. 向吸附柱 RA 中央加入 50 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ g, 加 30-50 μ 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)。

注: 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 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 μ L 去蛋白液 RW1”改成“加 700 μ L 去蛋白液 RW1”，同时省略步骤 5，6，7。

=====

