

Biospin Plant Total RNA Extraction Kit

Biospin 多糖多酚植物总RNA提取试剂盒

TECHNICAL SUPPORT:

For technical support, please dial phone number : 0086-571-87774567-5215 or 5211, or fax to 0086-571-87774553

Email to reagent@bioer.com.cn.

Website: www.bioer.com.cn

试剂盒组成

货号	BSC65S1
试剂盒组成	50 人份
Lysis AG	25ml
Lysis BG	25ml
PLANTaid	2.5ml
PG Buffer	30ml
Wash Buffer	18ml (使用前加入 54ml 无水乙醇)
RElution Buffer	10ml
Spin columns	50
说明书	1 份

储存与运输

- ◆ Biospin 多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒于室温保存，有效期为 18 个月。
- ◆ 可在常温下运输。

介绍

本试剂盒是一种植物总 RNA 提取试剂, 特别适合于多糖多酚植物组织的总 RNA 提取。样本经液氮研磨裂解后, 通过离心去杂质, 再乙醇调节结合条件后直接过柱, 再经洗涤洗脱即可得到高纯度总 RNA。

本试剂盒操作简便易行, 可以同时处理多个样品, 得到高质量的 RNA。纯化的 RNA 可以直接用于 RNA 印迹分析、斑点杂交、poly(A)⁺ 选择、体外翻译、RNA 酶保护分析 RT-PCR 分析、构建 cDNA 文库等 RNA 研究。

基本技术参数

提取方法	操作时间	离心柱容积	得率
离心柱	30 分钟内完成	750 μ l	\geq 90%

需要的配套设备和材料

- * 无菌无酶的1.5ml离心管
- * 离心机（最大转速>14,000rpm）
- * β -巯基乙醇
- * 无菌无酶的各种规格移液器吸头
- * 无酶无水乙醇
- * 液氮
- * 研钵
- * 漩涡振荡器

重要提示

Wash Buffer 在使用前请先按照瓶身标签标明体积加入无水乙醇，并将其混匀。

Lysis AG 适合大部分植物样本；当效果不理想时请尝试 **Lysis BG**，如蘑菇类。

操作步骤

1. 试剂准备：

- a. 操作前在 **Lysis** 中加入 β -巯基乙醇至终浓度 1%，如 1ml **Lysis** 中加入 10 μ l β -巯基乙醇；此裂解液最好现用现配，配好的 **Lysis** 4°C可放置一个月。
- b. 取 500 μ l **Lysis**（已经加入 β -巯基乙醇），加入 1.5ml 离心管中，加入 50 μ l **PLANTaid** 混匀备用。

注：**PLANTaid** 是提取多糖多酚次级代谢产物色素含量丰富的困难样品不可缺少成分。提取普通植物组织可以不加 **PLANTaid**，RNA 产量可能会提高一些。

2. 样本预处理：

液氮中研磨适量植物组织成细粉后，称取 50mg 细粉放入上述装有 **Lysis** 和 **PLANTaid** 的 1.5ml 离心管中，立即剧烈振荡至无明显颗粒状，室温静置 5 分钟。

3. 将裂解物 13000rpm 离心 10 分钟，沉淀不能裂解的碎片和结合有多糖多酚的 **PLANTaid**，将 420ul 裂解物上清转到一个新的 1.5ml 离心管中。

注：如果想得到更多的 RNA，可以尽量多吸裂解物上清，但不要吸到沉淀。

4. 较精确估计裂解物上清体积，加入 0.5 倍体积的无水乙醇，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。

5. 将混合物吸入 **Spin column** 中，**Spin column** 要套上离心管，13000rpm 离心 1min。

6. 弃去外套管中液体，向 **Spin column** 中加入 600 μ l **PG Buffer**，室温静置 30s，12000rpm 离心 30s，弃去接液管中液体。

7. 向 Spin column 中加入 600 μ l Wash Buffer (请先检查是否已加入无水乙醇), 12000rpm 离心 30s, 弃去接液管中液体。加入 600 μ l Wash Buffer 重复洗涤一次。
8. 然后空柱于 12000rpm 离心 1min, 尽量去除 Wash Buffer, 以免 Wash Buffer 中残留的乙醇抑制下游反应。
9. 将 Spin column 移入新的 1.5ml 离心管中, 在膜中央加入 RElution Buffer (或 pH>7.0 的 DEPC 处理水) 30–50 μ l, 室温静置 1min, 12000rpm 离心 1min, 获得总 RNA。
10. 如果预期 RNA 产量 > 30ug, 可以加 30–50 μ l RElution Buffer 重复步骤 9, 合并两次洗脱液, RNA 产量比前者高 10–30%, 但是浓度要低, 用户根据需要选择。如果需要 RNA 浓度高, 可以将第一次的洗脱液加回到 Spin column 膜上重复步骤 9。

常见问题及对策

1. 试剂盒室温保存, 保质期 18 个月。
2. 当室温过低时, Lysis AG 和 Lysis BG 会结晶析出, 请在 37 度水浴溶解后使用。
3. 离心速度除已说明外均为 12,000rpm–14,000rpm, 室温离心 (有条件可 4°C 离心)。
4. 首次使用时在 Wash Buffer 瓶中加入标签标明量的无污染的无水乙醇, 拧紧瓶盖, 并混合均匀。
5. 避免环境中 RNA 酶污染, 操作要戴手套, 所有枪头和 Eppendorf 管以 DEPC 水处理, 移液枪保证洁净无 RNA 酶污染。如果把试剂放在超净台 (普通超净台或专用的桌面 PCR 超净台) 中操作, 可以有效减少 RNA 酶污染。
6. 样本上清液加入 Spin column 中离心 1 min 结束后, 如 Spin column 中仍有液体, 表明样本超量或裂解不完全导致吸附膜阻塞。处理方案是: a. 减少样本量; b. 如已发生阻塞又不想放弃此标本, 可用加样枪头划破离心柱膜的表层, 再重新离心 1min。
7. 尽量保证在膜中央加入 RElution Buffer 30 μ l–50 μ l, 低于 30 μ l 将不能保证吸附膜被充分浸润。
8. 获得的总 RNA 有微量基因组 DNA 污染。如果要进行严格的 mRNA 表达量分析如荧光定量 PCR, 处理方案有: a. 在步骤 PG Buffer 漂洗前, 直接在吸附柱上进行 DNaseI 处理, 请购买 DNaseI (Cat# BSA35S1) 和索取无 DNA 残留版说明书; b. 选用跨内含子的引物, 以穿过 mRNA 中的连接区, 这样 DNA 就不能作为模板参与扩增反应。

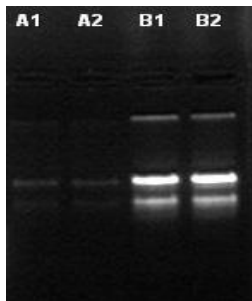
9. 提取的总 RNA 置于 4℃ 或冰浴中，立即用于下游实验（如 RT-PCR）；或立即置于 -80℃ 冰箱保存。无论采用何种方法提取和保存的 RNA，都往往会被很快降解，因而建议避免提取 RNA 后保存。建议先将标本（细胞、组织）保存在 RNA 保存液或液氮中，来保证 RNA 质量不受影响，用试剂盒抽提仍可以获得高质量的总 RNA。

RNA 的检测分析及图例

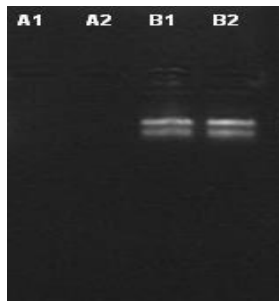
比较两款不同厂家的多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒提取各种植物的提取效果。（琼脂糖凝胶浓度 1%）

A: 某知名品牌 B: Biospin

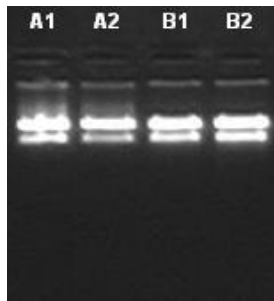
Picture1: Photinia serrulata



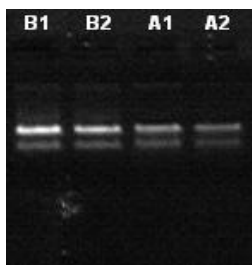
Picture2: Malus spectabilis



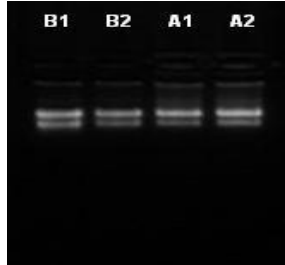
Picture3: Corn



Picture4: Azalea



Picture5: Tea



Picture6: Fungus

