



版本: 2025/01/05

# 植物种子RNA提取试剂盒

## Plant Seed RNA Extraction kit

### Catalog # ZP439

| 试剂盒组成                         | ZP439-1 (50次) |
|-------------------------------|---------------|
| 缓冲液S1                         | 50 mL         |
| 缓冲液T1                         | 25 mL         |
| 漂洗液RW                         | 15 mL         |
| RNase-free ddH <sub>2</sub> O | 10 mL         |
| RNA 吸附柱                       | 5 0T          |
| 收集管 (2mL)                     | 5 0T          |
| 说明书                           | 1 份           |

储存条件: 室温 (15°C-25°C)、避光运输和储存。保质期1年

### 产品简介

独特的裂解液迅速裂解油脂或者淀粉含量高的种子, 分离油脂或淀粉的同时高效抽提RNA, 再通过缓冲液和吸附柱的配合, 提取纯化RNA, 之后通过漂洗步骤将剩余蛋白质、细胞代谢物等杂质去除, 最后低盐的RNase Free H<sub>2</sub>O将纯净RNA从硅基质膜上洗脱。

### 产品特点:

1. 高效: 产品专门针对油脂或者淀粉含量高的种子设计;
2. 提取的总RNA完整性好, OD260/OD280典型的比值 2.1~2.2, 基本无 DNA 残留, 可用于 RT-PCR, Northern-blot 等下游实验。用于RT-PCR时推荐使用去基因组DNA的反转录试剂盒。

### 操作流程:

#### 实验准备: 异丙醇、氯仿、研钵、无酶枪头、无酶1.5 ml EP管

1. 取800  $\mu$ l 缓冲液S1加入到1.5 ml EP管中, 备用;
2. 研钵液氮预冷, 将样品转移至研钵中, 期间不断加入液氮, 直至研磨成粉末状;
3. 取30-50 mg粉末加入装有缓冲液S1的EP管中, 迅速上下剧烈晃动/涡旋至分散均匀, 室温静置 2 min, 置于4°C离心机, 12,000 rpm离心5 min。离心分层后, 最上层是脂质层, 吸取上清时, 注意不要吸到该层杂质;  
注: 样品大于50mg, 提取得率会有上升, 但DNA污染也会加多。所以尽量不要多加。
4. 吸上清600  $\mu$ l加入到预装有400  $\mu$ l 缓冲液T1的1.5 ml EP管中, 上下颠倒混匀30 s, 静置1 min, 加入200  $\mu$ l氯仿, 上下剧烈晃动30 s, 静置 2 min, 置于4°C离心机, 12,000 rpm 离心5 min;



5. 吸上清600  $\mu$ l加入到预装有200  $\mu$ l异丙醇的1.5 ml EP管中, 上下颠倒混匀, 将所有溶液包括可能出现的沉淀转移到RNA吸附柱, 置于4 $^{\circ}$ C离心机, 12,000 rpm离心1 min, 弃废液;
6. 向柱内加入500  $\mu$ l 漂洗液RW (使用前确保已加入无水乙醇), 置于4 $^{\circ}$ C离心机, 12,000 rpm离心30 s, 弃废液;
7. 重复步骤6;
8. 置于4 $^{\circ}$ C离心机, 12,000 rpm空离2 min;
9. 将吸附柱放入新的1.5 ml EP管中, 开盖静置2 min, 向吸附柱的膜上滴加50-100  $\mu$ l RNase free ddH<sub>2</sub>O, 静置2 min, 置于4 $^{\circ}$ C离心机, 12,000 rpm离心1 min, 获得总RNA。若想获得浓度更高的RNA, 可以将洗脱下来的RNA重新加到吸附柱的膜中央, 室温静置2 min, 然后置于4 $^{\circ}$ C离心机, 12,000 rpm离心1 min, 获得总RNA。

## 注意事项:

1. 第一次使用前请先在漂洗液RW瓶中加入无水乙醇, 加入量请参见瓶上标签。
2. 裂解液对皮肤有一定刺激性, 操作时要戴乳胶手套及口罩, 避免试剂沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 及时清水冲洗即可。
3. 使用无RNase 的试剂耗材避免交叉污染。建议实验室干净整洁, 避免环境RNA酶污染。
4. 需要低温离心机。
5. 关于DNA 的微量残留: 本试剂盒独特的裂解液可以清除绝大多数的DNA残留, 不需要 DNase 额外消化, 可直接用于RT-PCR 和qRT-PCR。个别特殊情况如 DNA 含量过于丰富造成残留或者要进行严格的下游实验, 则可在第5步后进行DNase I柱上消化 (ZP430):
  - a. 向柱内悬滴80  $\mu$ L DNase I 工作液, 室温消化5min (不要离心);  
(DNase I 工作液配方: 78  $\mu$ L DNase Buffer + 2  $\mu$ L DNase I, 临用临配)
  - b. 继续加入500  $\mu$ L去蛋白液CR, 13,000 rpm离心30 s, 弃废液。