



(DP419) RNAsimple

总RNA提取试剂盒操作指南

——植物

天根生化科技（北京）有限公司

版本号：20170327

WWW.TIANGEN.COM

实验准备

1. 植物叶片 研钵 液氮
2. 无水乙醇 氯仿
3. 移液器及配套RNase-free无菌枪头（200 μ l， 1ml）， 1.5 ml， 2.0ml 离心管（RNase-free）
4. 涡旋振荡器， 台式低温离心机



实验准备-试剂盒准备

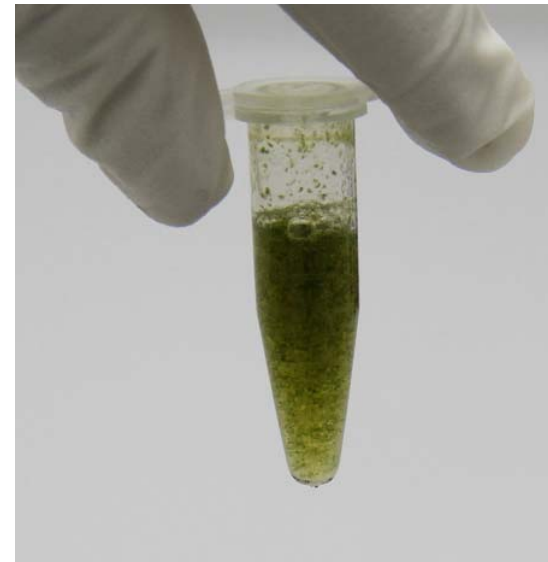
第一次使用前应在去蛋白液RD、漂洗液RW中加入无水乙醇，加入量请参见瓶上标签。并在加入无水乙醇后在瓶身做好标记。



Step 1



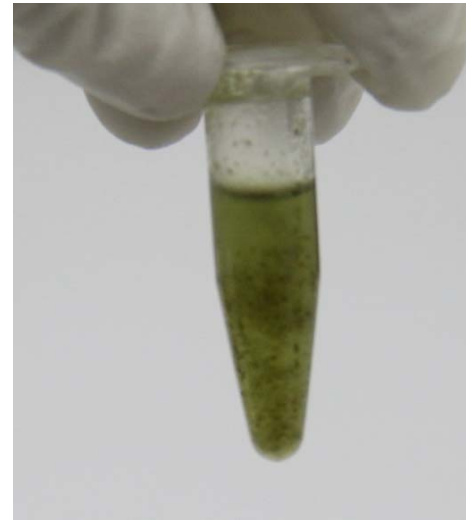
将组织在液氮中磨碎。



每50–100 mg组织加1 ml 裂解液
RZ并迅速混匀

注意：为保证样本不会融化降解，**先准备好裂解液，然后将研磨后的样品直接加入裂解液中。** 样品体积不应超过裂解液RZ体积的十分之一。

Step 2



将匀浆样品在15–30°C放置5 min，
使得核酸蛋白复合物完全分离。

样品颜色会变的稍微灰暗

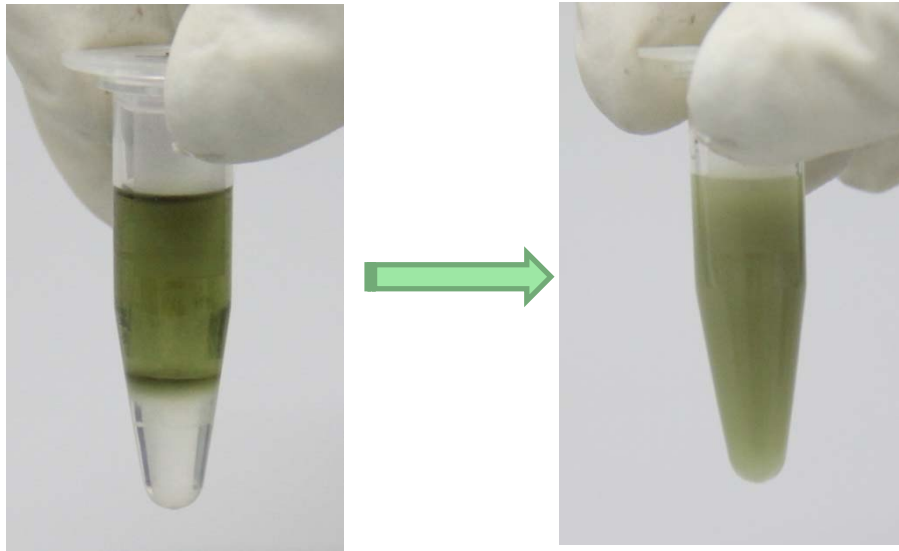
Step 3 (可选步骤)



4°C 12,000 rpm (~13,400 × g) 离心5 min,
取上清, 转入一个新的离心管 (RNase
Free) 中。

注意: 如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖或植物结节部分等, 可加此步骤离心去除。
离心得到的沉淀中包括细胞外膜、多糖、高分子量DNA, RNA存在于上清溶液中。

Step 4



加入200 μ l氯仿，盖好管盖

剧烈振荡15 sec，室温放置3 min。

Step 5



4°C 12,000 rpm (~13,400×g) 离心10 min,



把水相转移到新管中，进行下一步操作。
水相的体积约为所用裂解液RZ试剂的50%

Step 6



缓慢加入0.5倍体积无水乙醇，
混匀（此时可能会出现沉淀）。

将溶液和沉淀一起转入吸附柱CR3中，4℃ 12,000 rpm
(~13,400×g)离心30 sec，弃掉收集管中的废液。

若一次不能将全部溶液和混合物加入吸附柱CR3，请分两次转入吸附柱CR3中，

Step 7



向吸附柱CR3中加入500 μ l去蛋白液RD（使用前请先检查是否已加入乙醇），4°C 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心30 sec，弃废液，将CR3放入收集管中。

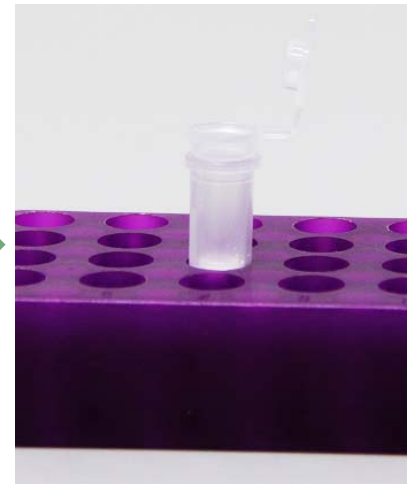
Step 8



向吸附柱CR3中加入500 μ l漂洗液RW（请先检查是否已加入乙醇），室温静置2 min，4°C 12,000 rpm (\sim 13,400 \times g)离心30 sec，弃废液。

Step 9 重复操作步骤8

Step 10

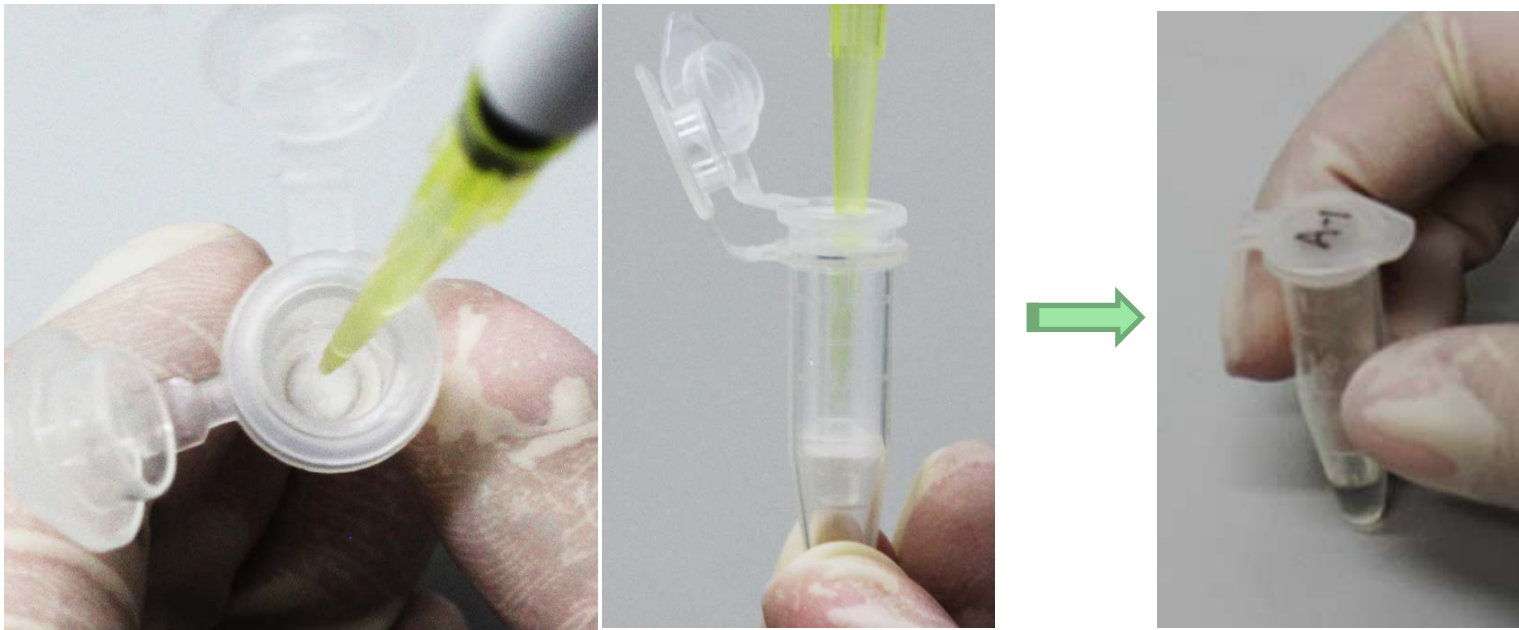


将吸附柱放入新的2 ml收集管中，
12,000 rpm (~13,400 × g) 离心2 min，倒掉废液。

离心后将吸附柱CR3在室温放置片刻，或置于超净工作台上通风片刻，以充分晾干。

注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。
但也不要时间过长以免过分干燥核酸不易溶解或RNA降解。

Step 11



将吸附柱CR3转入一个新的离心管中，加30–100 μl RNase-Free ddH₂O，室温放置2 min，4°C 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心2 min。

洗脱缓冲液体积不应少于30 μl ，体积过小影响回收效率。且RNA应保存在-70°C，以防降解。