

产品概述

Zol-Simple Plant Total RNA Kit 是一款尤其适用于小麦、水稻、豆芽、拟南芥、烟草、白菜等简单植物组织以及动物细胞快速高效提取高质量总 RNA 而设计的一款试剂盒。本产品中 Zol Reagent 可充分裂解样本,再通过硅胶膜特异吸附水相中的 RNA,兼具 Trizol 法裂解能力强、完整性好、产量高和柱式提取法快速、纯度高的优点。提取的 RNA 适用于 RT-PCR、qRT-PCR、cDNA 文库构建、二代测序等高要求的分子生物学实验。

产品信息

产品名称	货号	规格
Zol-Simple Plant Total RNA Kit	BR2B201-01	50 T
植物总 RNA 提取试剂盒	BR2B201-02	100 T

产品组分

	组分名称	BR2B201-01	BR2B01-02
BOX 1	Zol Reagent	50 mL	100 mL
BOX 2	Buffer RWA	9 mL	18 mL
	Buffer RWB	12 mL	24 mL
	RNase-free ddH ₂ O	10 mL	20 mL
	Pure RNA Columns I (each in a 2 mL Collection Tube)	50 套	100 套
	RNase-free Collection Tubes 1.5 mL	50 套	100 套

保存条件

BOX 1, 2-8°C避光存储;

BOX 2, 室温存储。

适用范围

尤其适用于多种简单植物组织(小麦、水稻、豆芽、拟南芥、烟草、白菜、芹菜,小米椒)以及动物组织、培养细胞的总 RNA 提取;也可适用于高淀粉植物如马铃薯、番薯等植物。

自备材料

氯仿、无水乙醇、液氮、研磨工具、RNase-free 离心管。

注意事项

- 1.本产品仅用作科研用途;
- 2.首次使用试剂盒前,请参考瓶上标签在 Buffer RWA 和 Buffer RWB 中加入对应体积的无水乙醇,并进行标注。
- 3.本产品中含有苯酚,具有毒性和腐蚀性,提取过程应在通风橱或生物安全柜中进行。操作时应穿戴防护

物品,如防护服、手套、眼罩、面罩等。如不慎接触到眼睛,应立即用大量的清水冲洗并前往医院治疗;接触到皮肤,请立即用大量去垢剂和清水冲洗,如仍有不适,请前往医院治疗。

4. RNA 提取的关键在于防止 RNase 污染,实验台、移液器、离心机内腔等用 RNase 去污剂清洁,避免 RNase 污染。

实验步骤

1. 样品前处理:

1.1. 植物组织: 取超低温冻存的组织或新鲜组织用液氮速冻并快速研磨成粉末状(无明显可见颗粒,研磨不彻底会影响 RNA 的得率和质量)。快速将研磨后样本转移至反应管中。接着往反应管中加入 Zol Reagent (每 50~150 mg 组织粉末加入 1 mL Zol Reagent), 涡旋振荡直至无明显团块, 室温静置 5 min。

可选步骤: 4°C 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 3 min, 取上清, 转入一个新的无 RNase 的离心管中。(如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖或肌肉、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。

1.2. 悬浮细胞: 2,300 rpm 4°C 离心 2-5 min 弃上清, 收集细胞。每 $1 \times 10^6 \sim 5 \times 10^6$ 个细胞加入 1 mL Zol Reagent, 涡旋振荡 15 s 或用移液器反复吹打直至充分裂解, 室温静置 5 min。

1.3. 单层培养细胞: 直接在培养板中加入 Zol Reagent 裂解细胞, 每 10 cm² 面积加 1 mL Zol Reagent, 用取样器抽打若干次至溶液透明。

注意: Zol Reagent 的加入量根据培养瓶面积决定, 如果加量不足, 可能导致提取 RNA 中有 DNA 污染。

2. 总 RNA 提取

2.1. 向上述裂解液中加入 1/5 体积的氯仿。剧烈振荡 15 s, 此时溶液呈乳浊液, 室温静置 3 min。

2.2. 12,000 rpm (13,400×g) 4°C 离心 10 min。

2.3. 小心取出离心管。此时溶液分为三层: 上层水相(含 RNA)、中间层和下层有机相。小心吸取上层水相(约 500 μL)至新的 RNase-free 离心管中, 切勿吸到中间层。

2.4. 缓慢加入 0.5 倍水相体积的无水乙醇, 充分混匀。

2.5. 将上一步骤中混合液全部转移至 Pure RNA Columns I (RNA Columns I 已放入收集管)中, 12,000 rpm (13,400×g) 4°C 离心 30 s, 弃滤液。

2.6. 向 Pure RNA Columns I 中加入 500 μL Buffer RWA (已加入无水乙醇), 12,000 rpm (13,400×g) 4°C 离心 30 s, 弃滤液。

2.7. 向 Pure RNA Columns I 中加入 500 μL Buffer RWB (已加入无水乙醇), 12,000 rpm (13,400×g) 4°C 离心 30 s, 弃滤液。

2.8. 重复步骤 2.7 一次。

2.9. 将 Pure RNA Columns I 放回收集管中, 12,000 rpm (13,400×g) 4°C 空离 2 min, 防止乙醇的污染。

2.10. 小心将吸附柱转移至新的 RNase-free Collection Tubes 1.5 mL 离心管中, 向吸附柱中央悬空滴加 50~200 μL 的 RNase-free ddH₂O, 室温静置 2 min, 12,000 rpm (13,400×g) 4°C 离心 1 min, 洗脱 RNA。

2.11. 提取的 Total RNA 可直接用于下游实验或于 -85 ~ -65°C 保存。