



GREENspin超快植物RNA提取试剂盒

免氯仿/ β -巯基乙醇

GREENspin Plant RNA Extraction kit

Catalog # ZP432

试剂盒组成	ZP432-1 (50次)	ZP432-2 (100次)
裂解液VGN	30 ml	60 ml
漂洗液RW	15 ml	15 ml \times 2
RNase-free ddH ₂ O	10 ml	20 ml
gDNA过滤柱	50 T	100 T
RNA 吸附柱	50 T	100 T
RNA收集管 (2 ml)	100 T	100 T \times 2
说明书	1 份	1 份

储存条件: 常温保存 (保质期1年)

产品特点:

- 本试剂盒是经过改进开发的新一代无毒绿色RNA提取产品。
- 可实现10分钟快速提取, 是目前已知速度最快、步骤最少的总RNA提取试剂盒。
- 与Trizol相比, 提取RNA质量高, 不同批次提取差异小。
- 提取的总RNA 适用于cDNA合成、RT-PCR、Real-time RT-PCR、芯片分析等实验。

注意事项:

- 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。
- 操作过程中勤换手套。严防操作环境、使用的容器、耗材和试剂的RNase污染。
- 个别情况下获得的RNA有DNA污染, 可能原因是细胞量过大。
- 如果样品极其特殊, 提取后出现大量DNA污染, 则可在第5步后进行DNase I柱上消化 (ZP430)。
 - (1). 向柱内悬滴80 μ l DNase I 工作液, 室温消化5 min (不要离心);
(DNase I 工作液配方: 78 μ l DNase Buffer + 2 μ l DNase I, 临用临配)
 - (2). 继续加入500 μ l去蛋白液RW1, 13,000 rpm离心30 s, 弃废液;
- 离心操作步骤室温或4 $^{\circ}$ C 离心均可。
- 步骤9尽量保证在膜中央加入洗脱液, 低于50 μ l 将不能保证吸附膜被充分浸润。



操作流程:

准备: 研钵、无酶枪头、无酶1.5 ml EP管、过滤柱、吸附柱和2 ml收集管、无水乙醇。

1. 取500 μ l裂解液VGN加入到1.5 ml EP管中, 备用;
2. 研钵液氮预冷, 将植物组织放入研钵中研磨, 期间不断加入液氮, 直至研磨成粉末状;
3. 取50mg细粉加入装有裂解液VGN的管中, 迅速涡旋30 s, 将混合液倒入gDNA过滤柱中(过滤柱放入收集管中), 13,000 rpm离心1 min, 保留滤液在收集管中, 如果滤过慢可以再离心1-2 min ;

注: (1). 对于植物叶片、根、茎等的样品建议加样量50 mg; 含水量高的如果实、块茎等样品建议加样量100-150 mg; 大豆等含淀粉量高的干种子类样品建议加样量30 mg, 并增加裂解液体积至1 ml, 柱子最大容量750 μ l, 裂解液过多则分次操作。

(2). 对于冬季小麦叶片等过滤缓慢的样品, 可增加离心时间至5 min。

4. 加入滤液 0.5倍体积的无水乙醇, 使用1 ml移液枪吸吹2-5次, 混匀即可;

注:对于绝大多数样品, 标准操作下, 全部滤液通常在460-480 μ l, 一个简便快速操作是:直接加入230 μ l乙醇即可。

5. 将混合液转移到RNA吸附柱(吸附柱放入新的收集管中), 12,000 rpm离心1 min, 弃滤液;

注: (1). 对于DNA污染极其敏感的实验, 推荐使用去基因组反转录试剂盒(庄盟货号ZR108)。

(2). 如果样品极其特殊, 提取后出现大量DNA污染, 则可在这一步后进行DNase I柱上消化, 具体参见注意事项相关条目。

6. 向柱内加入500 μ l漂洗液RW(使用前确保已加入无水乙醇), 12,000 rpm离心30 s, 弃滤液;

7. 重复步骤6;

8. 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g) 空离2min, 去掉残留乙醇;

9. 丢弃收集管, 将吸附柱放入新的1.5 ml EP管中, 向膜上悬滴50-100 μ l RNase free ddH₂O, 静置1 min, 12,000 rpm离心1 min, 获得总RNA。