**MesPure Plant RNA Miniprep Kit 植物总RNA小量柱式提取试剂盒 MR8761**

****

**Technical literature is available at:** [**www.mesgenbio.com**](http://www.mesgenbio.com)**. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com**

**产品简介**

本试剂盒用于从各种植物中提取纯化高品质总RNA，也适用于真菌菌丝RNA的提取。试剂盒采用一系列裂解液裂解植物组织、细胞，抑制RNA酶，释放RNA，优化了结合条件，使硅胶膜高效吸附RNA，多次漂洗去除DNA、蛋白质及其他杂质，最后经低盐溶液洗脱得到RNA。同时我们在常规胍盐的基础上进行了改进，添加了一些对多糖多酚类物质结合力很强的成分，像Plantaid可以高效结合多糖多酚，然后在离心的过程中去除。 本试剂盒提取RNA纯度高，几乎无DNA残留。提取的RNA可用于Northern Blot、Dot Blot 、RT-PCR和体外翻译等实验。

**试剂盒组成**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Component** | **MPK5205-50T** | **MPK5205-100T** | **MPK5205-250T** |
| **Solution RL** | 52ml | 104ml | 260ml |
| **Plantaid** | 5.2ml | 10.5ml | 26ml |
| **DNase I (1U/μl)** | 1.05ml | 2.1ml | 5.3ml |
| **RNase-Free Water** | 5.1ml | 2×5.1ml | 5×5.1ml |
| **10×Reaction Buffer** | 420μl | 850μl | 2.05ml |
| **DNA Wash Buffer** | 12ml(add 48ml ethanol) | 24ml(add 96ml ethanol) | 60ml(add 240ml ethanol) |
| **RNase-Free Water** | 10ml | 20ml | 25ml |
| 吸附柱 | 50 | 100 | 250 |
| 收集管 | 50 | 100 | 250 |

**注意事项**

1．使用无RNase的塑料制品和枪头，避免交叉污染；配制溶液应使用无RNase的水；操作人员戴一次性口罩和手套；

玻璃器皿应在使用前于180℃高温下干烤4小时，塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10分钟，用水彻底冲洗后高压灭菌。

2．提取的样品避免反复冻融，否则影响RNA提取的量和质量。

3．**Solution RL**在使用前请加入1%(w/v) β-巯基乙醇，加入β-巯基乙醇的**Solution RL** 2-8℃保存。

4．第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在**DNA Wash Buffer**中加入无水乙醇。

5．**Solution RL**如果产生沉淀，请加热使其溶解后室温放置。

**操作方法**

1. 50-100mg植物组织在液氮中迅速研磨成粉末，然后转移到一个1.5ml离心管（RNase-free）中加入1ml **Solution RL**（使用前检查是否加入**β-巯基乙醇**）以及100μl **Plantaid**。涡旋振荡使其充分裂解。

**注意：**56℃孵育1-3分钟有助于组织的裂解，但是淀粉含量高的植物不要进行高温孵育。

1. 12,000 rpm（~13,400×g）离心2分钟，小心将上清液转移到一个新的1.5ml离心管（RNase-free）中。
2. 在步骤2所得的裂解液中加入0.5倍体积的无水乙醇，迅速混匀。

**注意：**加入乙醇后可能会产生沉淀，但不影响后续试验。

1. 将上步得到的溶液转移到已装入收集管的吸附柱中,若一次不能将全部溶液加入吸附柱中，请分几次转入; 12,000 rpm离心15秒，弃掉废液，将吸附柱重新放回收集管中。
2. 向吸附柱中加入500μl **DNA Wash Buffer**（使用前检查是否加入无水乙醇），12,000 rpm离心1分钟，弃废液，将吸附柱重新放回收集管中。
3. 取52μl **RNase-Free Water**，向其中加入8μl **10×Reaction Buffer**和20μl **DNase I**（1 U/μl），混匀， 配制成终体积为80μl的反应液。
4. 向吸附柱中直接加入80µl DNase I 混合液，20-30℃孵育15分钟。
5. 向吸附柱中加入500μl **DNA Wash Buffer**（使用前检查是否加入无水乙醇）, 12,000 rpm离心1分钟，弃废液。
6. 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm离心1分钟，将吸附柱置于室温数分钟，以晾干吸附柱中无水乙醇。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余乙醇去除，乙醇残留会影响后续的酶促反应(酶切、PCR等)。

1. 将吸附柱装入新的离心管中，向吸附膜的中间加入30-50μl **RNase-Free Water**，室温放置1分钟，12,000 rpm离心1分钟，得到的RNA溶液保存在-70℃，防止降解。

**注意：**

1） **RNase-Free Water**体积不应小于30μl，体积过小影响回收率。

2） 如果要提高RNA的产量，可用30-50μl新的**RNase-Free Water**重复步骤10。

3） 如果要提高RNA浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤10。

**储存条件**

**RNase-Free Water**，加入**β-巯基乙醇**的**Solution RL** 2-8℃保存；**DNase I** -20℃保存；其他组分室温（15-30℃）；

**仅供科学研究，不得用于临床治疗**