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. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com

MESGEN™ INNOVATION BIOTECHNOLOGY

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。

2． 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。

3． 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。

4．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。

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，将吸附柱重新放回收集管中。

6．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。

7．向吸附柱中直接加入 80μl DNase I 混合液，20-30℃孵育 15 分钟。

8．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。

9．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)。

10. 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