

Imagene®

**GenePure Universal Plant RNA Kit/
with DNase I**

**GenePure 通用植物RNA快速提取试剂盒/
带DNA酶柱上消化**

密码子生物科技有限公司
<http://www.codon.com/>

CODONNX

RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

GenePure 通用植物 RNA 快速提取试剂盒/ 带 DNA 酶柱上消化 目录号 RE119

使用说明书

网站: www.codonx.com

咨询电话: 010-56315162

技术支持 QQ: 3090544158

1/适用范围

2/试剂盒组成、储存、稳定性

3/储存事项

4/产品介绍

5/产品特点

6/注意事项

7/操作步骤

1/适用范围:

适用于快速提取通用植物RNA。

2/试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次(RE119-01)
裂解液 RPA	室温	50 ml
去蛋白液 PRS	室温	40 ml
漂洗液 RB	室温	10 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml
DNase Buffer	-20℃	1.25 ml x 2
RNase free DNase I	-20℃	0.25 ml
RNase-free 吸附柱 AC 和收集管 CT	室温	50 套

本试剂盒按照各成份指示储存 12 个月不影响使用效果。

3/储存事项:

1. 常温成份不合适的储存于低温(4℃或者-20℃)会造成溶液沉淀,影响使用效果,因此运输和储存均在室温下(15℃-25℃)进行。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化,各溶液使用后应及时盖紧盖子。

4/产品介绍:

独特的裂解液迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶,然后用乙醇调节结合条件后, RNA 在高离子盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜, DNase 直接在柱上消化残留 DNA,再通过一系列快速的漂洗-离心的步骤,去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物,蛋白等杂质去除,最后低盐的 RNase free H₂O 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。

5/产品特点:

1. 完全不使用有毒的β-巯基乙醇/苯酚/氯仿,也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 简捷,单个样品操作一般可在 40 分钟内完成,世界上最简单快速的试剂盒。
3. 配套 DNase I 柱上消化,得到的 RNA 不残留 DNase 消化,可直接用于反转录 荧

光定量 PCR、二代测序、芯片、RACE 等实验。

4. 世界领先，是同类产品中最适应性最广泛的试剂盒，可以提取包括水稻、玉米、小麦、拟南芥、番茄和一般多糖多酚植物。
5. 多次柱漂洗确保高纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 典型的比值达 2.0~2.2，无 DNA 残留，可直接用于荧光定量 PCR、RT-PCR、芯片、二代测序、Northern-blot 等各种实验。

6/注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000 rpm的传统台式离心机。
2. 需要自备乙醇，研钵(可选)。
3. 裂解液RPA和去蛋白液PRS中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。

7/操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

提示：

⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 RB 瓶加入指定量无水乙醇！

1. 直接研磨法（推荐）：

- a. 新鲜植物组织称重后取 100mg 迅速剪成小块放入研钵（冰冻保存或液氮保存样品可直接称重后取 100mg 放入研钵），加 1 ml 裂解液 RPA 室温下充分研磨成匀浆，注意应该迅速研磨让组织和裂解液 RPA 立刻充分接触以抑制 RNA 酶活性。
- b. 将裂解物转入离心管，剧烈摇晃振荡 15 秒，13,000rpm 离心 5-10 分钟，沉淀不能裂解的碎片。
- c. 取 480μl 裂解物上清（在不超过 RNA 吸附柱能力的情况下可以取更多或者全部上清，这样可以提高产量）转到一个新离心管。加入上清体积一半的无水乙醇（0.5 体积），此时可能出现沉淀，但是不影响提取过程，立即吹打混匀，不要离心。
- d. 立刻接操作步骤的步骤 3。

2. 液氮研磨法：

- a. 取 500μl 裂解液 RPA，转入 1.5ml 离心管中。
- b. 液氮中研磨适量植物组织成细粉后，取 50mg 细粉转入上述装有裂解液 RPA 的离心管，立即用手剧烈振荡 20 秒，充分裂解。
- c. 用吸头吹打混匀帮助裂解或者剧烈涡旋震荡直到得到满意匀浆结果(或者电动匀浆 30 秒)，可以剪切 DNA，降低粘稠度和提高产量。
- d. 将裂解物 13,000 rpm 离心 5-10 分钟，沉淀不能裂解的碎片。

e. 取裂解物上清（在不超过 RNA 吸附柱能力的情况下可以取更多的上清，这样可以提高产量）转到一个新离心管。加入上清体积一半的无水乙醇(0.5 体积)，此时可能出现沉淀，但是不影响提取过程，立即吹打混匀，不要离心。

f. 立刻接操作步骤的步骤 3。

注意：以上液氮研磨法用户可以根据需要加倍处理，可以提高产量。也就是使用 1ml 的裂解液 RPA 和 100mg 的样品。

3. 将混合物(每次小于 720 μ l，多可以分两次加入)加入一个吸附柱 AC 中，(吸附柱 AC 放入收集管 CT 中) 13,000 rpm 离心 2 分钟，弃掉废液。

确保离心后液体全部滤过去，膜上没有残留，如有必要，可以加大离心力和离心时间。

4. 加 350 μ l 去蛋白液 PRS，室温放置 1 分钟，13,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。

5. DNase I 工作液配制：取 45 μ l DNase I buffer 和 5 μ l RNase free DNase I 在离心管轻轻吹打混匀成工作液（处理多个离心柱子要按照比例放大制备工作液）。

6. 向吸附柱 AC 中央加入 50 μ l 的 DNase I 工作液，室温（20-30 $^{\circ}$ C）放置 15 分钟。注意直接将工作液滴在膜中央上，不要让工作液滴在 O 型圈或是离心柱管壁上。

7. 向吸附柱 AC 中加入 350 μ l 去蛋白液 PRS，12,000 rpm 离心 30 秒，弃废液，将吸附柱 AC 放回收集管 CT 中。

8. 加入 500 μ l 漂洗液 RB（请先检查是否已加入无水乙醇!），13,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。加入 500 μ l 漂洗液 RB，重复一遍。

9. 将吸附柱 AC 放回空收集管 CT 中，13,000 rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

10. 取出吸附柱 AC，放入一个 RNase free 离心管中，根据预期 RNA 产量在吸附膜的中间部位加 30-50 μ l RNase free water(事先在 70-90 $^{\circ}$ C 水浴中加热可提高产量)，室温放置 1 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟。

11. 如果预期 RNA 产量>30 μ g，加 30-50 μ l RNase free water 重复步骤 10，合并两次洗液，或使用第一次的洗脱液加回到吸附柱重复步骤一遍(如果需要 RNA 浓度高)。

洗脱两遍的 RNA 洗脱液 RNA 浓度高,分两次洗脱合并洗脱液的 RNA 产量比前者高 15-30%，但是浓度要低，用户根据需要选择。

注意：如果不需要做荧光定量 PCR，仅仅做普通的反转录，克隆基因片段，可以省略 DNA 酶柱上消化的步骤，具体就是第 4 步骤的“加 350 μ l 去蛋白液 PRS”改成“加 700 μ l 去蛋白液 PRS”，同时省略步骤 5，6，7。

密码子生物科技有限公司
<http://www.codonx.com/>



CodonX(China) Biotechnology Co., Ltd

Yizhuang Biomedical Park

Building 6, No. 88 6th Kechuang St. Economic-Technological Development Area, Beijing, China

Tel: 010-56315162 www.codonx.com