

PlatRIzol 植物总 RNA 提取试剂

产品货号	产品名称	储存条件	保质期
F15002	PlatRIzol 植物总 RNA 提取试剂	2-8℃ 保存	1 年

产品简介：

SuperTRIgent 是广谱型总 RNA 提取试剂。实验操作快速方便，颜色鲜明，便于分层。本试剂适用范围广泛，可以从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中提取总 RNA。该方法对少量的组织(50-100mg)和细胞(5×10^6)以及大量的组织($\geq 1g$)和细胞($> 10^7$)均有较好的分离效果。样品在 SuperTRIgent 中被充分裂解的同时能够最大限度地保证 RNA 的完整性。在加入氯仿离心后，溶液会分成三层：上层无色水相、中间层和下层红色有机相，RNA 分布在上清层中。收集上清层后，经异丙醇沉淀便可以回收得到总 RNA。提取的总 RNA 完整性好，无蛋白和 DNA 污染，可用于各种分子生物学常规实验，如 RT-PCR、Real-time RT-PCR、Northern blot、Dot Blot、体外翻译等。SuperTRIgent 能促进不同种属不同分子量大小的多种 RNA 的析出。例如，从大鼠肝脏抽提的 RNA 琼脂糖凝胶电泳并用溴化乙啶染色，可见许多介于 7kb 和 15 kb 之间不连续的高分子量条带(mRNA 和 hnRNA 成分)，两条优势核糖体~2 kb(28S)和~1 kb(18S)，低分子量 RNA 介于 0.1 和 0.3kb 之间(tRNA, 5S)。当抽提的 RNA 用 TE 稀释时其 A260/A280 比值 ≥ 1.8 。

操作步骤：

<友情提示>：

- 1) 抽提 RNA 时要戴手套和护眼罩。避免接触皮肤和衣服。
- 2) 在化学通风橱完成操作。避免呼吸道吸入。
- 3) 如无特殊说明，所有的操作应该在在 15~30℃ 的室温条件下。

1. 匀浆

a. 植物组织：取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在 SuperTRIgent 中迅速研磨，每 50-100mg 组织加入 1ml SuperTRIgent，混匀。注意：样品体积一般不要超过 SuperTRIgent 体积的 10%。

b. 动物组织：取新鲜或 -70℃ 冻存动物组织尽量剪碎，每 30-100mg 组织加入 1ml SuperTRIgent，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入 SuperTRIgent 1ml 混匀。注意：样品体积一般不要超过 SuperTRIgent 体积的 10%。

c. 单层培养细胞：尽量去除干净残留培养液后直接往直径 3.5 cm 的培养板中加入 1ml 的 SuperTRIgent 覆盖并反复吹打裂解细胞。依据培养板的面积而不是依据细胞的数量来决定所需的 SuperTRIgent 量 (每 10cm^2 加 1ml)。当 SuperTRIgent 量不足时可导致抽提的 RNA 中污染有 DNA。

注意：贴壁培养细胞往往不能完全从培养瓶/皿脱落，这并不意味着裂解不完全，此时细胞膜实际已经完全破裂开并已释放出全部 RNA，继续做即可。

d. 细胞悬液：离心收集细胞。在 SuperTRIgent 试剂中用移液管反复吹打来裂解细胞。每 $5 \sim 10 \times 10^6$ 的动物细胞，植物或酵母菌细胞或每 1×10^7 细菌加 1ml 的 SuperTRIgent。在加入 SuperTRIgent 前应避免洗涤细胞，因为那样会增加 mRNA 降解的可能性。破裂某些酵母菌和细菌可能需要使用匀浆器。

3. 可选步骤：在4°C的条件下以 12,000 rpm 的离心力离心 10 分钟，取上清。

如样品中含有较多蛋白质，脂肪，多糖或肌肉，植物的块茎结节等可离心去除。离心后的沉淀中包含有细胞外膜，多糖，以及高分子量 DNA，上清中含有 RNA。处理脂肪组织的样品时，上层是大量油脂应除去。取澄清的匀浆液进行下一步。

4. 每 1ml SuperTRIgent 加 0.2ml 氯仿。盖紧管盖，剧烈震荡 15 秒并将其在室温下放置 2~3 分钟。

5. 在 4°C 12,000 rpm 的离心力高速冷冻离心 10-15 分钟。离心后混合物分成三层：下层红色有机苯酚氯仿层，中间层，上层无色的水样层。RNA 无一例外地存在于水样层当中。水样层的容量大约为所加 SuperTRIgent 容量的 50-60%。（有机层和中间层是蛋白和 DNA，如果需要提取，请联系我们索取提取方法）。

6. 将水样层转移到一干净的离心管中，加入等体积异丙醇。颠倒混匀后室温放置 10 分钟。<注意：RNA 沉淀在离心前通常不可见，离心后在管侧和管底形成胶状沉淀>。

7. 在室温或者 4°C 12,000 rpm 离心 10 分钟，弃上清。

8. 加入 75%乙醇洗涤沉淀。每使用 1ml SuperTRIgent 用 1ml 75%乙醇对沉淀进行洗涤。

9. 在室温或者 4°C 12,000 rpm 离心 3 分钟，弃上清，注意不要丢失 RNA 沉淀。<注意：剩余的少量液体可短暂离心，然后用枪头吸出，注意不要吸弃沉淀>。

10. 室温放置 2-3 分钟，晾干。加入 30-100µl RNase free water，充分溶解 RNA，得到的 RNA 保存在 -70°C，防止降解。<注意：沉淀不要过分干燥，以免难于溶解>。

附注 RNA 纯度及浓度检测：

A、完整性：RNA 可用普通琼脂糖凝胶电泳（电泳条件：胶浓度 1.2%；0.5×TBE 电泳缓冲液；150v，15 分钟）检测完整性。由于细胞中 70%-80% 的 RNA 为 rRNA，电泳后 UV 下应能看到非常明显的 rRNA 条带。动物 rRNA 大小分别约为 5kb 和 2kb，分别相当于 28S 和 18SrRNA。动物 RNA 样品中最大 rRNA 亮度应为次大 rRNA 亮度的 1.5-2.0 倍，否则表示 RNA 样品的降解。出现弥散片状或条带消失表明样品严重降解。

B、纯度：OD260/OD280 比值是衡量蛋白质污染程度的指标。高质量的 RNA，OD260/OD280 读数（10mM Tris, pH7.5）在 2.1-2.2 之间（100% 纯的 RNA 比值一般是 2.2 左右，很多公司无法达到这个标准，所以 1.9-2.0 就凑合用了，但是我们的产品标准一般可以达到 2.1-2.2）。OD260/OD280 读数受测定所用溶液的 pH 值影响。同一个 RNA 样品，假定在 10mM Tris, pH7.5 溶液中测出的 OD260/OD280 读数 1.8-2.1 之间，在水溶液中所测读数则可能在 1.5-1.9 之间，但这并不表示 RNA 不纯。

C、浓度：取一定量的 RNA 提取物，用 RNase-free 水稀释 n 倍，用 RNase-free 水将分光光度计调零，取稀释液进行 OD260，OD280 测定，按照以下公式进行 RNA 浓度的计算：终浓度（ng/µl）=（OD260）×（稀释倍数 n）×40。

注意事项：

1. **本品中含有苯酚，具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会导致中毒、灼伤以及其他身体伤害。使用本产品时应穿戴防护物品，如防护服、手套、眼罩、面罩等。如果不小心中触，应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。**

2. 样品匀浆后, 如果不即刻加入氯仿之前, 置于 -70°C 下可放置一个月以上。保存在75%乙醇中的RNA沉淀, $2-8^{\circ}\text{C}$ 可以保存一周, -20°C 条件下可以保存1年。RNA半衰期比较短, 容易降解, 建议提取后尽快进行后续实验, 如反转录成cDNA, Northern Blot等。
3. 若下游实验对DNA非常敏感, 建议用RNase free DNase I对RNA进行处理。
4. 自备试剂: 氯仿、异丙醇(新开封或提取RNA专用)、75%乙醇(用DEPC处理过的水配制)、RNase free water或者DEPC处理过的水。
5. 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床诊断或治疗, 食品及化妆品等用途。请勿存放于普通住宅区。
6. 为了您的安全和健康, 请穿好实验服并佩戴一次性手套和口罩操作。
7. 实验结果可由多种因素影响, 相关处理只限于产品本身, 不涉及其他赔偿。

免责声明: 本公司将不为任何不正常使用此产品时所发生的意外负责。

北京伊事达科技有限公司

电话: 13564444959

官网: www.followme-shop.com

地址: 北京市海淀区东北旺西路58号尚科办公社区C区一楼



公众号



客服