

多糖多酚植物 microRNA 提取试剂盒

货号	规格
AF507B	100 次

产品说明

适用范围:

各种植物 microRNA 提取

试剂盒组分:

Buffer RL	55ml*2
Buffer RW1	40ml*2
Buffer RW2	11ml*2
Rnase-free Water	10ml
RNApure Reagent	100ml
Rnase-free 过滤柱 RA	50个*2
Rnase-free 吸附柱 RB	50个*2

保存条件:

Buffer RW2	2-8°C
RNApure Reagent	2-8°C
其它组分	室温保存

本试剂盒用于从各种植物中提取纯化高品质 microRNA, 还可以提取 siRNA, snRNA 等其他小于 200nt 的小分子 RNA, 同时也可用于总 RNA 的提取。采用硅基质膜吸附 RNA 进行纯化, 使多聚糖等各种污染物通过洗涤被有效去除, 经洗脱的 RNA 可直接用于各种下游实验。

自备试剂: 无水乙醇 (新开封或提取 RNA 专用)

操作步骤

1. 取 1ml 裂解液 RL, 转入 1.5ml 离心管 (自备) 中, 65°C 水浴, 备用。
2. 取植物新鲜组织 50-100 mg, 加入液氮迅速研磨成粉末, 将粉末转入上述装有裂解液的离心管中, 立即涡旋剧烈震荡混匀, 65°C 孵育 10 分钟以使核蛋白体完全分解。
3. 室温条件下 13,000×g 离心 5 分钟, 小心取上清转入一个新的 2ml Rnase-free 离心管 (自备) 中。
4. 加入等体积事先预冷的异丙醇, 颠倒混匀, 4°C 13,000×g 离心 5 分钟。
5. 尽可能多的去除上清, 小心不要倒掉沉淀, 加入 100ul Rnase-free Water 重新溶解沉淀。
6. 加入 900ul 裂解液 RNApure Reagent, 混匀。
7. 加入 200ul 氯仿, 涡旋混匀, 放置 2-3 分钟。
8. 于 4°C 13,000×g 离心 10 分钟, 样品会分成三层: 下层有机相, 中间层和上层无色的水相, RNA 存在于水相中。把水相 (约 700ul) 转移到新的 1.5ml Rnase-free 离心管 (自备) 中, 进行下一步操作。
9. 加入 0.6 倍体积 70% 乙醇 (请先检查是否已加入无水乙醇!), 颠倒混匀 (此时可能会出现沉淀)。得到的溶液和可能沉淀一起转入吸附柱 RA 中 (吸附柱套在收集管内, 分两次过柱)。
10. 13,000×g 离心 45 秒, 收集下滤液 (下滤液中含有 microRNA) 到一个 2ml Rnase-free 离心管 (自备) 中, 准确估计下滤液的体积 (准确性非常重要), 加入 2/3 倍体积的无水乙醇, 颠倒几次混匀, 将混合液倒入到吸附柱 RB 中 (吸附柱 RB 容量约为 700ul, 所以要分几次离心加入同一吸附柱), 13,000×g 离心 30 秒弃掉废液。
11. 加入 500ul 漂洗液 RW2 (请先检查是否已加入无水乙醇!) 到吸附柱 RB 中, 13,000×g 离心 60 秒, 弃掉废液。
12. 加入 500ul 漂洗液 RW2, 13,000×g 离心 60 秒, 弃掉废液。
13. 将吸附柱 RB 放回空收集管中, 13,000×g 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。
14. 取出吸附柱 RB, 放入一个 Rnase-free 离心管 (自备) 中, 根据预期 microRNA 产量在吸附膜的中间部位加 30-50ul Rnase-free Water (事先在 65-70°C 水浴中加热效果更好), 室温放置 2 分钟, 13,000×g 离心 1 分钟。收集得到纯净 microRNA 保存于 -20°C 或者更低。

本产品仅供科研使用, 请勿用于临床诊断及其它用途