

pBIOZOL Plant Total RNA Extraction Reagent

pBIOZOL 植物总 RNA 提取试剂

TECHNICAL SUPPORT:

For technical support, please dial phone number :

0086-571-87774567-5278 or 5211, fax to 0086-571-87774303

Email to reagent@bioer.com.cn.

Website: www.bioer.com.cn

试剂组成

| 货号 | Cat# BSC55S1 | Cat# BSC55S1 |
|---------|--------------|--------------|
| pBIOZOL | 30ml | 100ml |
| 说明书 | 1 份 | 1 份 |

储存与运输

1. 本试剂储存于 4℃。如果适当保存，可以稳定保存 6 个月(从发货之日起)。
2. 本试剂可在常温下运输。

介绍

pBIOZOL 提供一个从植物组织中提取高质量总 RNA 的简单、快速、有效的技术，尤其是富含多酚、多糖的样本。使用 pBIOZOL 可从各种植物组织样本中提取得到高得率总 RNA。

基本技术参数

| 样本量 | 试剂用量 |
|----------|-------------|
| ≤100mg | 0.5ml |
| 0.1 至 5g | 5ml 每 1g 样本 |

RNase-free 准备

- 实验时请一直带手套并经常更换。
- 操作过程中使用合理的手法，避免 RNA 酶污染。
- 使用可高压处理的塑料制品时，请 0.1%DEPC 处理过夜并高压灭菌。
- 使用适合 RNA 操作的移液器。
- 使用防气溶胶 Tip 头，以防止样品交叉污染或试剂污染。
- 玻璃器皿于 150℃烘烤 4 小时。
- 不能高压处理的塑料制品可用 0.5 M NaOH 浸泡 10 分钟，然后用无 RNA 酶的水冲洗干净。
- 无 RNA 水需用无 RNA 酶的容器盛放。
- 配制终浓度为 0.01% (v/v)的 DEPC 水溶液，放置过夜后高压灭菌处理，用于配制无 RNA 酶的溶液与试剂。
- 所有实验器具和试剂必须无 RNA 酶。

需要的配套设备和材料

* 离心管（1.5ml or 2.0ml 离心管用于样本≤0.1g；15ml 离心管用于 0.1~1.0g 样本；50ml 离心管用于 1.0~5.0g 样本）

* 10 μ l/100 μ l/1000 μ l tips

* 液化氮 * 异丙醇 * 5 M NaCl * 氯仿 * 75% 乙醇 * RNase-free 水

* 最大转速 14,000g (\leq 0.1g 样本) 或 3,000g (0.1~5.0g 样本) 的离心机

* 研钵和研磨棒 * 漩涡振荡器

注意事项:

pBIOZOL 含有 β -mercaptoethanol 和叠氮化钠。使用时应在通风柜内，穿戴手套和眼部防护装置。

操作步骤 I (样本 \leq 0.1g)

1. 在液化氮中将样本研磨成粉末。(建议: 先在离心管中加好适量的 pBIOZOL。研磨后立刻将样本转移到离心管中。)
2. 加 0.5 ml 预冷的(4 $^{\circ}$ C) pBIOZOL 到最多 0.1g 冷冻、研磨好的样本中。用漩涡振荡器混匀或轻轻弹击离心管底部直到样本完全重悬。
3. 室温放置 5 分钟。注意: 将离心管横置使得 RNA 提取时接触面积最大化。
4. 于 12,000 \times g, 室温, 离心 2 分钟以使液体澄清。将上清转移到新的 RNase-free 离心管。
5. 加 0.1 ml 的 5M NaCl 到该上清液中, 轻弹离心管 (或用漩涡振荡) 以混合均匀。
6. 加 0.3 ml 氯仿。颠倒或漩涡振荡混匀。
7. 于 12,000 \times g, 4 $^{\circ}$ C, 离心 10 分钟使液体分相。转移上层水相到新的 RNase-free 离心管。
8. 加入与该上层水相相同体积的异丙醇。混匀后室温放置 10 分钟。
9. 于 12,000 \times g, 4 $^{\circ}$ C, 离心 10 分钟。
10. 轻轻弃去上清液, 小心操作不要丢失沉淀。向沉淀物加 1ml 的 75% 乙醇。注意: 沉淀或许难以被看见。
11. 于 12,000 \times g, 室温, 离心 1 分钟。小心地弃去液体, 不要丢失沉淀。短暂离心后将残液集中并用移液器吸弃。
12. 加 10-30 μ l RNase-free 水溶解 RNA。用移液器反复吹打沉淀促进溶解 RNA。如果有杂质, 请于 12,000 \times g, 室温, 离心 1 分钟后将上清液转移到新的离心管。保存于 -70 $^{\circ}$ C。

操作步骤 II (0.1~5.0g 样本)

1. 在液化氮中将样本研磨成粉末。(建议: 先在离心管中加好适量的 pBIOZOL。研磨后立刻将样本转移到离心管中。)
2. 每 1g 冷冻、研磨好的植物组织上加 5 ml 4 $^{\circ}$ C 预冷的 pBIOZOL。用漩涡振荡器或敲打晃动离心管的方法使样本完全重悬。
3. 室温放置 5 分钟。注意: 将离心管横置使得 RNA 提取时接触面积最大化。
4. 于 3,000 \times g, 4 $^{\circ}$ C, 离心 5 分钟。将上清转移到新的 RNase-free 离心管。
5. 每 10 ml 上清液加入 2 ml 的 5M NaCl 并用漩涡振荡器混匀。然后每 10ml

上清液加入 6 ml 氯仿并用漩涡振荡器混匀。

6. 于 $3,000\times g$, 4°C , 离心 30 分钟使液体分相。转移上层水相到新的 RNase-free 离心管。
7. 估计上层水相体积并加入 0.9 倍的异丙醇。混匀并于室温放置 10 分钟。
8. 于 $3,000\times g$, 4°C 离心 30 分钟, 并轻轻弃去上清液, 小心操作不要丢失沉淀。
9. 向沉淀物加 5 到 10ml 的 75%乙醇, 再 $3,000\times g$, 4°C , 离心 5 分钟。
10. 小心地弃去上清液, 不要丢失沉淀。短暂离心后将残液集中并用移液器吸弃。
11. 加适量的 RNase-free 水溶解 RNA。用移液器反复吹打沉淀促进溶解 RNA。
12. 将 RNA 溶液转移到无 RNase 离心管中。如果发现有杂质, 请于高速室温离心 1 分钟后将上清液转移到新的离心管。保存于 -70°C 。

常见问题及对策

无提取产物

在 75%乙醇洗涤后, 需小心地弃去上清液。如果沉淀物丢失, 将无法得到产物。

低得率

1. 如果样本未被研磨充分, 你的得率将会降低。请将样本研磨充分。
2. 使用漩涡振荡器将样本在 pBIOZOL 中混匀分散充分。
3. 如果样本内源性 RNA 含量少, 请加入 1 μl 的 20 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 糖原到每毫升 RNA 提取清液中以帮助 RNA 沉淀。

RNA 问题

1. 获取样本后如需长期保存, 请保存于 -70°C 。
2. 先取适当量的 pBIOZOL 到离心管中。样本研磨成粉末后立即转移到离心管。

吸光度分析问题

1. 吸光值体现了样本与空白对照之间的差值。
2. 用水稀释 RNA 会降低 A260/280 比值。请用 10 mM Tris-HCl (pH 7.5) 稀释 RNA, 以用于紫外分光光度测量。

组织残渣发出异味的问题

由于 pBIOZOL 含有 β -mercaptoethanol, 请将组织残渣放入一个烧瓶内, 用水稀释并加少量 3% 的过氧化氢。稍加遮盖, 放置过夜。用碳酸氢钠中和其酸性后丢弃。