

# 植物 RNA 提取试剂盒 V1.5

RN33050 (50preps)

## 使用手册

Ver:260303

用于各种植物样本的总 RNA 提取

适用范围广，有效去除多糖多酚，优秀的纯度和产量

使用 DNase I 柱上消化 DNA，彻底去除基因组 DNA 残留

◇产品编号：RN33050 (50preps)

◇常温运输、保存（15-25℃）

◇本产品仅供科研使用

成都百菲特科技有限公司

## 一、产品概述：

本试剂盒适用于从多种植物组织中快速提取总 RNA，特别适合富含多糖多酚、高淀粉含量、高蛋白含量、高油脂含量、水果、浆果、种子等类型的样本。提取过程中使用 DNase I 在吸附柱上消化 DNA，彻底去除基因组 DNA 残留。

目前已成功用于小麦、水稻、玉米、红薯、紫薯、马铃薯、石斛、菠萝叶、油菜籽、麻风树、小麦种子、花生种子等植物样本的总 RNA 提取。

## 二、产品系列：

产品名称	辅助试剂	适用范围
植物RNA提取试剂盒V1.5	<input checked="" type="checkbox"/> 酚、氯仿 <input checked="" type="checkbox"/> 巯基乙醇 <input checked="" type="checkbox"/> DNase I	大多数植物样本，产量高
植物RNA提取试剂盒V1.6	<input checked="" type="checkbox"/> 酚、氯仿 <input checked="" type="checkbox"/> 巯基乙醇 <input checked="" type="checkbox"/> DNase I	普通样本和多糖多酚样本，微量DNA残留
植物RNA提取试剂盒V2.0	<input checked="" type="checkbox"/> 酚、氯仿 <input checked="" type="checkbox"/> 巯基乙醇 <input checked="" type="checkbox"/> DNase I	普通样本和极难的多糖多酚样本
植物RNA快速提取试剂盒	<input checked="" type="checkbox"/> 酚、氯仿 <input checked="" type="checkbox"/> 巯基乙醇 <input checked="" type="checkbox"/> DNase I	普通样本和部分多糖多酚样本

## 二、规格及组成：

组 分	RN33050 (50preps)
溶液 A	50 ml
溶液 B	15 ml
溶液 C	50 ml
溶液 D	40 ml
漂洗液	50 ml
RNase-free H <sub>2</sub> O	10 ml
RNA 吸附柱	50 个
使用手册	1 份
■ Recombinant DNase I (1U/μl)	350 U (选配)
■ DNase I Buffer	3 ml (选配)
■ 漂洗液	50 ml (选配)
■ 漂洗液 RW2	30 ml (选配)
自备试剂	氯仿或二氯甲烷

## 三、注意事项：

1. 使用前请检查溶液 A 中是否有溶质析出。溶液 A 在低于 10°C 环境下长时间存放，可能会出现浑浊或有固体物质析出。若出现上述现象，需将溶液 A 在 50-60°C 水浴中加热至少 10min，使固体析出物彻底溶解，溶液恢复澄清，充分摇匀后才能使用，否则容易引起 RNA 提取结果异常。
2. 溶液 A、B、C、D、RW2 都含有刺激性化合物，建议操作时戴乳胶手套、口罩及护目镜，避免沾染皮肤和衣服。若不慎沾染皮肤、眼睛时，用大量清水或生理盐水冲洗，必要时及时就医。
3. 对于公用的电泳槽及制胶板，在进行 RNA 电泳前应进行清洗，防止 RNA 在电泳过程中降解而误判 RNA 提取失败。推荐使用[固相 RNase 清除剂](#)。

4. 为确保离心参数稳定, 本手册使用**相对离心力**来确定离心机的转数, 如“**室温, 12,000×g 离心 5min**”表示在当前温度下离心 5min, 离心机在对应转速下产生的相对离心力约为 **12,000** 倍地球引力。通常在离心机上被标识为“**RCF**” (Eppendorf) 或“**×g**”(Thermo)。

## 四、使用方法:

1. 取30-100mg植物样本, 根据单次提取的样本数量, 参考下列三种研磨方法来破碎样本:

### ▲液氮机器研磨:


取适量新鲜叶片剪成**5-10mm**的碎片后, 转入**2ml**研磨管, 加入直径**3-5mm**的钢珠或其它研磨珠, 关闭盖子后在液氮中冷冻**1-3min**, 然后迅速转移到[组织研磨仪](#)进行破碎。破碎后的样本呈粉末状, 温度较低时呈较浅的绿色, 此时立即加入**1ml**溶液A, 立刻涡旋振荡混匀, 样本和溶液A充分混匀后才能在室温下暂存, 否则容易导致**RNA**降解。

### ▲液氮手工研磨:

在研钵中倒入液氮, 加入适量的植物组织样本, 在液氮浸泡下迅速将样本研磨成细粉, 待液氮刚好完全蒸发时, 迅速将样品粉末转入液氮预冷的**2ml**离心管中, 粉末体积建议不超过**250ul**刻度, 然后及时加入**1ml**溶液A并立即振荡混匀。在转移粉末时应注意控制时间, 或及时补充少量液氮, 防止样本升温导致**RNA**降解。


### ▲常温手工研磨:

取适量新鲜植物组织剪成小块放入研钵, 加入**1ml**溶液A, 用研钵在室温下将样本研磨成细粉, 研磨时必须让样本被溶液A充分浸润, 以抑制**RNase**活性。研磨结束后, 用**1ml**移液器将全部液体连同磨碎后的样本转入**2ml**离心管。

-  **注意:** a. 由于液氮冷冻后的样本温度非常低, 加入裂解液后, 粉末和液体的接触面可能会出现结冰的现象, 不利于样本的混匀, 需要用涡旋振荡仪振荡至样本完全分散在裂解液中, 否则部分样本在未接触裂解液的情况下解冻, 可能会引起**RNA**降解。
- b. 样本在破碎后如果不及时加入裂解液, 样本粉末会在室温下迅速升温, 颜色也会从浅绿色变成深绿色, 此时样本中的**RNA**酶会逐渐恢复活性, 容易发生**RNA**降解。
- c. 如果样本数量较多, 研磨成粉的样本可以连同研磨管一起平放在干冰上暂存。如果需要将研磨好的样本再放回液氮中暂存, 需要避免将研磨管长时间浸没在液氮中, 否则液氮可能从盖子缝隙处渗入管内, 当从液氮中取出研磨管, 并在室温下添加裂解液时, 研磨管中残余的液氮会因为受热而快速汽化膨胀, 极易引起研磨管炸裂, 若经常出现这种情况, 需要使用密封性更好的研磨管, 并避免研磨管长时间浸没到液面以下。

2. 短暂离心**5-10**秒, 将附着在管盖上的液体离心到研磨管底部, 以便下一步加入溶液。

3. 在研磨管中加入**300ul**溶液B和**200ul**氯仿 (或二氯甲烷), 在振荡器上振荡**30**秒混匀, 此时溶液呈均匀的乳浊状。振荡器振荡时必须使试管中的溶液充分乳化。

-  **注意:** 溶液 B 主要成分为酚, 静置后溶液会分为上层水相和下层有机相, 请取用下层有机相。上层水相, 主要用于避免储存时酚的氧化; 下层有机相为酚。溶液 B 在剧烈晃动后会呈现乳浊状, 静置 **15-20min** 后

溶液即可重新分层。

4. 将离心管在室温，12,000×g 离心3-5min，沉淀细胞碎片和杂质，以便分离出清澈透明的上清液。

正常现象：

a.离心结束后，两相间会有2-5mm厚的细胞破碎物，与上清液分界明显，在吸取上清时不会有固体杂质被同时吸走。


5. 转移750-900μl上清液到干净的2ml离心管中，避免吸入中间层的杂质。

6. 加入与上清等体积的溶液C，立即吹打或涡旋混匀。

7. 将上述混合物(每次最多700μl, 请分多次进行离心)加入到一个RNA吸附柱中，室温，12,000×g 离心1min，弃掉收集管中的滤液。

8. 加入700μl溶液D，静置30秒，室温，12,000×g 离心1min，弃掉收集管中的滤液。

9. 吸附柱上消化DNA:(可选步骤)

 注意：对于绝大多数植物样本，在步骤8结束后，吸附膜上通常只残留非常少的基因组DNA。如果后续实验已经包含DNase 消化步骤或进行oligo dT吸附，则此处的“吸附柱上消化DNA”的步骤可以省略，直接进行步骤10。

9.1 加入700μl漂洗液，室温，12,000×g 离心1min，弃掉收集管中的滤液。

9.2 室温，12,000×g 离心2min。此步非常重要，否则残留的乙醇会抑制DNase I的活性。

9.3 将5-6μl的Recombinant DNase I加入到45-44μl DNase I Buffer中吹打混匀配制成50μl的DNase I工作液，然后将50μl的DNase I工作液滴加到吸附柱的膜上，室温静置15-20min。

9.4 加入600μl漂洗液RW2，室温，12,000×g 离心1min，弃掉收集管中的滤液。

10.加入500μl漂洗液，室温12,000×g 离心1min，弃滤液。加入500μl漂洗液，再漂洗一次。

11. 将RNA吸附柱放回空的收集管中，室温，12,000×g 离心2min。

 注意：此步非常重要，否则残留的乙醇会影响RNA的使用。

12.将RNA吸附柱放入一个RNase-free 离心管中，直接在吸附膜的中间部位加50-100μl（推荐50-70μl）RNase-free H<sub>2</sub>O，室温放置3-5min。

13.室温，12,000×g 离心2min。离心管中溶液即为RNA样品，可以立即使用或存放于-80℃待用。

产品咨询: 18040311981

公司 QQ: 24111785

公司微信: 右侧二维码

成都百菲特科技有限公司

<http://www.biofit.com.cn>

