

# 植物 RNA 提取试剂盒 V1.6

RN34050 (50preps)

## 使用手册

Ver:260303

用于普通植物样本、多糖多酚植物样本的总 RNA 提取  
不使用酚和氯仿，高效去除多糖多酚，优异的纯度和产量  
使用 DNase I 柱上消化 DNA，彻底去除基因组 DNA 残留

- ◇产品编号：RN34050 (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提取总 RNA，并针对蔷薇科等富含多糖多酚的植物样本进行了特别的优化，加强了去除多糖多酚的能力，非常适合用其它方法提取效果不好的样本。提取过程中使用 DNase I 在吸附柱上消化 DNA，可以彻底去除基因组 DNA 残留。

目前已成功用于小麦、水稻、玉米、草莓、棉花、黑加仑、葡萄、猕猴桃、玫瑰、月季、树莓、梨树、桃树、苹果数、枇杷、杜鹃、石斛、鱼腥草、番茄的叶片，以及苹果果实、梨树果实、草莓果实、草莓花瓣、青芒果等植物样本的总 RNA 提取。


## 二、规格及组成：

组 分	RN34050 (50preps)
溶液 A	50 ml
溶液 B	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)

## 三、注意事项：

1. 溶液 A 和溶液 B 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。
2. 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 清除剂进行清洗。
3. 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：

 注意：部分样本需要在溶液 A 中加入 5%-10%的  $\beta$ -巯基乙醇，可以提高 RNA 的产量和完整性，例如某些品种的金针菇样本需要在 1ml 溶液 A 中加入 100  $\mu$ l  $\beta$ -巯基乙醇，混匀后使用。

1. 取40-100mg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. 将离心管在室温，12,000 $\times$ g 离心5min，沉淀细胞碎片和杂质，以便分离出清澈透明的上清液。

3. 转移700-800 $\mu$ l上清液到干净的2ml离心管中，避免吸入底部杂质。

4. 加入等体积的溶液B，立即吹打或涡旋混匀。

 注意：请勿剧烈振荡，否则容易产生大量泡沫，反而使液体难以混匀。

5. 将上述混合物(每次最多700 $\mu$ l, 请分多次进行离心)加入到一个RNA吸附柱中, 室温, 12,000 $\times$ g 离心1-2min, 弃掉收集管中的滤液。
6. 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5结束后, 吸附膜上通常只残留非常少的基因组DNA (不会显著影响对RNA的定量)。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7。
    - 6.1 加入700 $\mu$ l漂洗液, 室温, 12,000 $\times$ g 离心1min, 弃掉收集管中的滤液。
    - 6.2 室温, 12,000 $\times$ 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。
    - 6.3 将5-6 $\mu$ l的Recombinant DNase I加入到45-44 $\mu$ l DNase I Buffer中吹打混匀配制成50 $\mu$ l的DNase I工作液, 然后将50 $\mu$ l的DNase I工作液滴加到吸附柱的膜上, 室温静置15-20min。
7. 加入500 $\mu$ l漂洗液, 室温12,000 $\times$ g 离心1min, 弃滤液。加入500 $\mu$ l漂洗液, 再漂洗一次。
8. 将RNA吸附柱放回空的收集管中, 室温, 12,000 $\times$ 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。
9. 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50-100 $\mu$ l (推荐50-70 $\mu$ l) RNase-free H<sub>2</sub>O, 室温放置3-5min。
10. 室温, 12,000 $\times$ 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 $^{\circ}$ C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>

