

# 植物 RNA 提取试剂盒 V2.0

RN35050 (50preps)

## 使用手册

Ver:260303

用于普通植物样本、多糖多酚样本的总 RNA 提取

不使用酚、氯仿，高效去除多糖多酚，优异的纯度和产量

使用 gDNA 清除柱，基本无 DNA 残留，无需单独进行 DNase I 消化

◇产品编号：RN35050 (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：

本试剂盒适用于从普通植物组织、多糖多酚植物组织、真菌中提取总 RNA，对富含多糖多酚的植物样本可以确保优秀的 RNA 产量和纯度。通过使用 gDNA 清除柱，可有效去除基因组 DNA 污染，得到的 RNA 一般不需要 DNase 消化，可直接用于反转录或进行 RNA 建库。

目前已成功用于小麦、水稻、玉米、草莓、棉花、花生、葡萄、猕猴桃、玫瑰、月季、蛇莓、树莓、梨树、桃树、苹果、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、山药、香蕉、黄荆等植物样本的总 RNA 提取。

## 二、规格及组成：

组 分	RN35050 (50preps)
溶液 A	50 ml
溶液 B	25 ml
去蛋白液 RW1	35 ml
漂洗液 RW	50 ml
RNase-free H <sub>2</sub> O	10 ml
gDNA 清除柱	50 个
RNA 吸附柱	50 个
使用手册	1 份
自备试剂	$\beta$ -巯基乙醇、无水乙醇

## 三、注意事项：

1. 溶液 A、溶液 B 和去蛋白液 RW1 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，建议在 RNA 电泳前进行清洗，防止电泳槽或制胶设备污染引发的 RNA 降解。推荐使用[固相 RNase 清除剂](#)对电泳槽和制备设备进行浸泡和清洗。
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 $\times$ 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“ $\times$ g”（Thermo）。

## 四、适用样本及推荐用量：

普通植物样本：30-100mg（小麦、玉米、水稻、大豆等样本的根、茎、叶组织）

多糖多酚植物叶片：不超过 50mg（葡萄叶、百合叶、草莓叶、油茶等）

果实：100-200mg（草莓果实，火龙果等）

大型真菌：30-150mg（金针菇、香菇等）

种子：30-100mg（小麦种子、小麦籽粒、水稻种子、大豆种子等）

块茎：50-150mg（红薯、马铃薯等）

注意：样本的 DNA 含量通常与物种类别、基因组大小、染色体倍数相关，建议在 RNA 产量满足后续应用的情况下，控制样本用量，防止因样本过量造成 DNA 污染。

## 四、使用方法：



注意：

- 溶液 A 在低温下可能会出现沉淀，若出现沉淀，通常在 60℃ 加热 10min 左右即可完全溶解。
- 溶液 A 使用前需要加入 5% 体积的  $\beta$ -巯基乙醇，每 1ml 溶液 A 中加 50ul  $\beta$ -巯基乙醇，混匀后使用。
- 也可以在 50ml 溶液 A 中加入 2.5ml  $\beta$ -巯基乙醇，添加  $\beta$ -巯基乙醇的溶液 A 可以在 2-8℃ 存放 3 个月。
- $\beta$ -巯基乙醇需要提前加入到溶液 A 中并混匀， $\beta$ -巯基乙醇对保持 RNA 完整性非常重要。
- 对于辣椒、金针菇等 RNA 酶含量非常高的样本，需要加入 10% 体积的  $\beta$ -巯基乙醇。

1. 取适量的植物样本，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 200ul 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. 研磨结束后，将离心管在 60℃ 加热 5-10min，可以促进样本更好地裂解，有利于提高 RNA 产量。

3. 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。

4. 转移700 $\mu$ l上清液到干净的2ml离心管中，避免吸入底部杂质。
5. 加入上清1/2体积的无水乙醇，立即吹打或涡旋混匀。加入无水乙醇后可能会出现沉淀，但是不影响提取过程，立即吹打混匀，不要离心。
6. 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gDNA清除柱中，室温，12,000 $\times$ g 离心1-2min，弃掉收集管中的废液。

 **注意：**确保离心后液体全部滤过去，膜上没有液体残留，如有必要，可以加大离心力或延长离心时间。

7. 将gDNA清除柱放入一个干净的2ml离心管内，加入500 $\mu$ l溶液B，室温，12,000 $\times$ g 离心1-2min，保留离心管中的滤液。
8. 用移液器较精确估计滤液体积，加入滤液1/2体积的无水乙醇，立即吹打或振荡混匀。
9. 将上一步的混合物加入到一个RNA吸附柱中，室温，12,000 $\times$ g 离心1min，弃掉收集管中的滤液。
10. 加入700 $\mu$ l去蛋白液RW1，室温，12,000 $\times$ g 离心1min，弃掉收集管中的滤液。
11. 加入500 $\mu$ l漂洗液RW，室温12,000 $\times$ g 离心1min，弃滤液。加入500 $\mu$ l漂洗液RW，再漂洗一次。
12. 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。

13. 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30-100 $\mu$ l（推荐50-70 $\mu$ l）RNase-free H<sub>2</sub>O，室温放置3-5min。
14. 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>

