植物 RNA 快速提取试剂盒 使用手册

Ver:251017

用于普通植物样本和大部分多糖多酚植物样本的总 RNA 提取不使用酚、氯仿、巯基乙醇,提取速度快,全程无异味使用 gDNA 清除柱,无 DNA 残留,无需单独进行 DNase I 消化

- ◇产品编号: RN36050
- ◇常温运输、保存(15-25°C)
- ◇本产品仅供科研使用

一、产品概述:

本试剂盒适用于大多数常见植物样本的根、茎、叶、果等组织的总 RNA 提取,也适用于大部分富含多糖多酚的植物样本,也可以用于部分大型真菌样本的总 RNA 提取,对富含多糖多酚的植物样本可以确保较高的 RNA 产量和优秀的纯度。

不使用酚、氯仿、巯基乙醇, 提取速度快, 全程无异味。

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。

二、规格及组成:

组分	RN36050 (50rxn)	
裂解液	40 ml	
结合液	30 ml	
去蛋白液 RW1	35 ml	
漂洗液 RW	50 ml	
RNase-free H₂O	10 ml	
gDNA 清除柱	50 个	
RNA 吸附柱	50 个	
使用手册	1 份	

三、注意事项:

- **1.** 裂解液、结合液和去蛋白液 **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<u>固相 RNase 清除剂</u>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,13,000×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 13,000 倍地球引力。通常在离心机上被标识为"RCF"(Eppendorf)或"×g"(Thermo)。

四、适用样本及推荐用量:

普通植物样本: 30-60mg(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: 30-50mg(葡萄叶、葡萄根、猕猴桃叶、百合叶、枇杷叶、石斛叶、菠萝叶、桃树根、香菲叶、青钱柳叶、大豆根瘤菌等)

种子: 50-100mg(小麦种子、小麦籽粒、水稻种子、大豆种子、野生大豆等)

块茎: 100-150mg (黄荆、马铃薯等)

果实:大约 200mg (草莓果实, 西红柿果实等)

大型真菌: 30-100mg (金针菇、香菇等)

五、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。

1. 取适量植物样本,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至少5min,然后迅速转移到组织研磨仪进行破碎。破碎后的样本应呈粉末状,温度较低时呈较浅的绿色,此时立即加入800μl裂解液,立刻涡旋振荡混匀,样本和裂解液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刻度线,然后及时加入800μl裂解液并立即振荡混匀,也可以放回液氮中暂存,待研磨结束后再加入裂解液。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:

液的情况下解冻也可能会引起RNA降解。

取适量新鲜植物组织剪成小块放入研钵,加入800µl裂解液,用研钵在室温下将样本研磨成细粉,研磨时必须让样本被裂解液充分浸润,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

- 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,需要注意研磨管在液氮中长时间浸泡后,液氮有可能从盖子缝隙处渗入,当在室温下操作研磨管时,研磨管中的液氮会快速汽化膨胀,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。
- **2.** 将振荡混匀后的离心管在室温,13,000×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。
- **3.** 转移600 μ l上清液到一个gDNA清除柱中,室温,13,000 \times g 离心1-2 \min ,避免吸入底部杂质。
- 注意: 离心后, 部分样本的上清可能有少量漂浮物, 将吸头穿过漂浮物再吸取上清。
- 4. 保留离心管中的滤液。
- 5. 用移液器较精确地估计滤液体积,加入与滤液等体积的结合液,立即吹打或颠倒混匀。
- **6.** 将上一步的混合物转移到一个RNA吸附柱中(每次最多700 μ l,请分多次进行离心),室温,13,000 \times g

离心1min,弃掉收集管中的废液。

- **7.** 向RNA吸附柱中加入700 μ l去蛋白液RW1, 室温, 13,000×g 离心1min, 弃掉收集管中的废液。
- 8. 加入500 μ I漂洗液RW,室温13,000 \times g 离心1 \min ,弃滤液。加入500 μ I漂洗液RW,再漂洗一次。
- 9. 将RNA吸附柱放回空的收集管中、室温、13,000×q 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。

- **10.**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30-100μl(推荐50-70μl) RNase-free H₂O, 室温放置3-5min。
- **11.**室温,12,000×q 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

