

Plant Total RNA Extraction Kit

植物总 RNA 提取试剂盒 (离心柱型)

目录号

BN12060

产品组成

组分	规格 (50 次)
裂解液 PRL (Buffer PRL)	40 mL
去蛋白液 PRW (Buffer PRW)	60 mL
漂洗液 PRW1 (Buffer PRW1)	20 mL
无 RNA 酶双蒸水 (RNase-Free ddH ₂ O)	10 mL
RNase-Free DNase I	550 μ L
DNase Buffer	5 mL
RNase-Free RNA Columns	50 个
RNase-Free gDNA Remove Columns	50 个
收集管 (Collection Tubes (2.0 mL))	100 个

保存条件

本试剂盒中 RNase-Free DNase I 和 DNase Buffer 置于 -20 °C 保存, 其余组分常温 (10~25°C) 保存 18 个月。

产品简介

本产品适合于从 10~200 mg 普通植物中提取总 RNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术, 提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提, 整个提取过程只需 20~30 min。试剂盒采用 DNase I 膜上消化, 可高效地去除 DNA, 得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern Blot、Poly A 纯化, 核酸保护和体外翻译等实验。

产品特点

◇ 操作简便: 20~30 min 内完成数个样品的总 RNA 提取;

- ✧ 高效去除基因组 DNA: DNase I 膜上消化, 高效去除 DNA;
- ✧ 安全低毒: 无需酚、氯仿等有毒试剂;
- ✧ RNA 纯度高: 提取的 RNA 无杂质残留, 适用于对纯度、完整性要求很高的下游实验。

适用范围

本产品适用于普通植物样品的总 RNA 提取。

注意事项

1. 第一次使用前应在漂洗液 PRW1 中加入 4 倍体积的无水乙醇;
2. DNase I 工作液的配制: 10 μ L DNase I + 60 μ L DNase Buffer, 轻轻吹打混匀, 现用现配;
3. 使用无 RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染, 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌、汗液及 RNase 等, 可能导致 RNA 降解;
4. RNA 在裂解液 PRL 中时不会被 RNase 降解。但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4 h, 塑料器皿可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 min, 然后用水彻底清洗、灭菌;
5. 配制溶液如 50%、70% 乙醇应使用 RNase-Free ddH₂O (将水加入干净的玻璃瓶中, 加 DEPC 至终浓度为 0.1%(V/V), 混匀放置过夜后高压灭菌);

使用方法

1. 样品处理: 用液氮将植物样品研磨成细小粉末。称取 10~200 mg 粉末至 1.5~2.0 mL 预冷的离心管中 (加裂解液前样品不能解冻, 初次使用推荐样品量为 30~50 mg, 根据结果再调整用量);
2. 立即加入 600 μ L Buffer PRL 及 20 μ L β -巯基乙醇 (自备) 至样品中, 高速涡旋 20~60 s 混匀样品, 室温静置 5 min;
3. 室温下 14,000 \times g 离心 5 min;
4. 将 RNase-Free gDNA Remove Column 装在 2 mL 收集管中, 把上一步的上清液转移至柱子中。12,000 \times g 离心 1 min, 弃去柱子, 保留滤液;
5. 取 0.5 倍体积无水乙醇加入滤液中, 用移液枪吸打 3~5 次;
6. 将 RNase-Free RNA Column 装在 2 mL 收集管中。取上一步混合液 (\leq 750 μ L) 至柱子中。12,000 \times g 离心 1 min;
7. 弃滤液, 把柱子装回收集管中。取剩余混合液至柱子, 12,000 \times g 离心 1 min;
8. 弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 500 μ L Buffer PRW, 10,000 \times g 离心 10 s;
9. 弃滤液, 把柱子装回收集管中, 加入 70 μ L 配置好的 DNase I 溶液至柱子膜中央 (DNase I 溶液: 10 μ L DNase I + 60 μ L DNase Buffer, 轻轻吹打混匀)。室温放置 15 min。
10. 加入 500 μ L Buffer PRW, 室温静置 1 min, 13,000 \times g 离心 1 min;

11. 弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500 μ L Buffer PRW1（已添加指定量无水乙醇）至柱子中，10,000 \times g 离心 10 s；
12. 重复步骤 11；
13. 弃滤液，把柱子装回收集管。13,000 \times g 离心 2 min，开盖置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残留的漂洗液；

注意：此步骤目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液的残留，可能会影响后续的 RT 等实验。

14. 将柱子转移至 1.5 mL 离心管。加入 30~100 μ L RNase Free ddH₂O 至吸附膜中央。室温静置 3 min。12,000 \times g 离心 1 min（柱子最小的洗脱体积是 30 μ L，若 RNA 产量超过 30 μ g，推荐进行第二次洗脱）弃去柱子，将洗脱的 RNA 置于-80 $^{\circ}$ C 保存。

常见问题与解决办法

Q1: 柱子出现堵塞?

A1:

- 1) 样品用量过多。按照说明书推荐的要求适量取样；
- 2) 样品富含多糖多酚类物质。处理富含多糖多酚的组织，推荐用专用试剂盒提取；
- 3) 离心温度过低。本产品使用操作均在室温下进行。

Q2: 提取的 RNA 出现降解?

A2:

- 1) 样品用量过多。影响裂解液的裂解能力，造成 RNase 未被充分抑制，导致 RNA 降解，建议参考说明书推荐取样量，若要增加样品起始量，则后续实验中各溶液量均要按等比例增加。对于内源 RNase 含量较多的组织应减少样品量，适当增加裂解液用量；
- 2) 样品保存不当。反复解冻会引起 RNA 降解，尽量使用新鲜样品或者解冻次数不超过 2 次的样品；
- 3) 操作过程中引入 RNase 污染。请使用 RNase-Free 的工具、试剂和耗材；
- 4) 电泳过程中发生降解。使用 RNase-Free 的 Loading Buffer、琼脂糖和电泳缓冲液等。

Q3: RNA 得率低?

A3:

- 1) 样品用量过多。样品过量会影响裂解效果，建议按照说明书要求适量取样；
- 2) 样品裂解不充分。请按照说明书的要求进行充分研磨、裂解；
- 3) 洗脱不充分。RNase Free H₂O 需直接加到膜中央，并静置 2 min 后再离心，必要时可进行二次洗脱以提高产量；
- 4) 吸附柱有乙醇残留。使用 Buffer PRW1 漂洗后需要开盖晾干吸附柱中的乙醇。

Q4: 提取的 RNA 中有 DNA 污染?

A4:

- 1) 样品用量过多。超出试剂盒规定的样本量影响裂解液的裂解能力可能会导致基因组的污染；
- 2) 次生代谢物较多。次生代谢物含量高的样本在提取 RNA 时易出现基因组的污染；
- 3) 操作过程中需要进行去除基因组 DNA 的操作，若 DNA 含量较多，可延长 DNase I 消化时间或重复消化。