

Plant Total RNA Extraction Plus Kit

多糖多酚植物总RNA提取试剂盒（离心柱型）

产品编号: MA2006 规格: 5T / 50T

产品内容

产品组成	MA2006-T 5T	MA2006-1 50T
Buffer GSL	4 mL	30 mL
Buffer GRW1	5 mL	40 mL
Buffer GRW2	2.4 mL (Add 9.6 mL absolute ethanol before use)	12 mL (Add 48 mL absolute ethanol before use)
RNase-Free ddH ₂ O	1 mL	15 mL
RNase-Free DNase I	10 µL	100 µL
DNase Buffer	200 µL	1.5 mL
RNase-Free gDNA Remove Columns	5 Rxns	50 Rxns
RNase-Free RNA Columns	5 Rxns	50 Rxns
说明书	1份	1份

产品简介

多糖多酚植物总RNA提取试剂盒 (Plant Total RNA Extraction Plus Kit) 是基于硅胶柱纯化技术的离心柱式总RNA提取试剂盒。试剂盒采用膜过滤及DNase I消化, 可更大程度的去除基因组DNA, 高效且专一的得到总RNA。本产品适用于从富含多糖多酚或淀粉的植物组织中快速提取总RNA。整个提取流程可在30~40分钟内完成, 无需使用酚和氯仿等有毒试剂。提取的总RNA纯度高、完整性好, 最大程度减少了DNA、蛋白等杂质污染, 可直接用于RT-PCR、qRT-PCR、Northern Blot、芯片分析、Dot Blot、Poly A筛选、体外翻译、RNA酶保护分析及分子克隆等实验。

注意事项

- 使用前请一定按照使用说明2的要求配制相关溶液。
- RNA在Buffer GSL中时不会被RNase降解, 但提取后继续处理过程中如果需要用到塑料和玻璃器皿则应使用RNase-Free的。玻璃器皿可在150°C烘烤4h, 塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10 min, 然后用RNase-Free水彻底清洗, 再灭菌。更建议使用一次性的RNase-free实验器具, 并且RNA实验专用, 不要用于其它实验, 避免交叉污染。
- 为了预防RNase污染, 请经常更换新手套, 以防止来自皮肤表面的RNase污染物。
- 提取RNA过程建议在专门做RNA的超净台中进行, 如有必要请提前喷洒核酸酶清除试剂。
- 由于植物样品种类的多样性, 且同一植物的不同生长发育阶段和不同组织的RNA含量均不相同, 请根据具体实验情况选择合适的植物和样品用量。
- 为了您的安全和健康, 操作时请穿着实验服并佩戴一次性手套。



使用说明

1 需自备材料

1.1试剂：无水乙醇、β-巯基乙醇

1.2耗材：RNase-Free的枪头和离心管

2 试剂准备

2.1 第一次使用前，应在Buffer GRW2中加入标签标识体积的无水乙醇。

2.2 每次操作前，应在Buffer GSL中加入终浓度5%的β-巯基乙醇（如在475 μL Buffer GSL中加入25 μL β-巯基乙醇），现配现用，加过β-巯基乙醇的Buffer GSL置于2~8℃可保存一个月。

【注意】加过β-巯基乙醇的Buffer GSL在储存过程中如果出现沉淀，请加热溶解后使用。

2.3 每次操作前，应配制DNase I工作液，按照需要量每2 μL DNase I加28 μL DNase Buffer，轻轻吹打混匀，现用现配。

3 样品处理：将50~100 mg植物叶片或果肉组织立即放入液氮速冻，并迅速转移至液氮预冷的研钵中充分研磨，期间不断加入液氮，直至研磨成粉末状。立即加入500 μL Buffer GSL（使用前请确认已加入β-巯基乙醇），高速涡旋震荡混匀。

【注意】对于富含淀粉的样品或成熟叶片，请将Buffer GSL的用量增加至700 μL。

4 12,000 rpm(~13,400×g) 离心2 min。

5 将上清液转入过滤柱RNase-Free gDNA Remove Column中，12,000 rpm(~13,400×g) 离心2~5 min，小心吸取收集管中的上清至新的1.5 mL离心管中。

【注意】尽量避免吸到收集管中的沉淀。

6 在所得的液体中加入0.4倍体积的无水乙醇，用移液枪吸打3~5次充分混匀（此时可能会出现沉淀），将得到溶液和沉淀混合物一起转入RNase-Free RNA Column中，12,000 rpm(~13,400×g) 离心30~60 s，弃掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

7 向吸附柱中加入350 μL Buffer GRW1，12,000 rpm(~13,400×g) 离心30~60 s，弃掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

8 向吸附柱中央加入30 μL的DNase I工作液（请确认已按照2 μL DNase I+28 μL DNase Buffer混合配制），室温放置15 min。

9 向吸附柱中加入350 μL Buffer GRW1，12,000 rpm(~13,400×g) 离心30~60 s，弃掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

10 向吸附柱中加入500 μL Buffer GRW2（使用前确认已加入无水乙醇），室温静置2 min。12,000 rpm(~13,400×g) 离心30~60 s，弃掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

11 重复步骤10。

12 12,000 rpm(~13,400×g) 离心2 min，弃掉废液，将吸附柱置于室温开盖放置数分钟，以彻底晾干吸附柱中残余的液体。

【注意】若晾干不彻底，可能会影响后续的RT等实验。

13 将吸附柱放入一个新的1.5 mL离心管中，根据实验需要，向吸附膜的中间部位小心悬空滴加30~100 μL RNase-Free ddH₂O，室温静置2 min，12,000 rpm(~13,400×g) 离心2 min，离心管中得到RNA溶液。得到的RNA溶液可置于-80℃保存或立即用于后续实验。

【注意】洗脱液体积过小会影响回收效率，最小的洗脱体积是30 μL。

保存条件

RNase-Free DNase I和DNase Buffer置于-20℃保存，其余组分常温保存。自生产之日起12个月有效。

常见问题与解答

问题	可能原因	建议
RNA得率低	样品裂解不充分	建议参考说明书充分研磨、振荡样品，使样品充分裂解
	样品用量过多	建议按照说明书要求适量取样
	洗脱不充分	RNase-Free ddH ₂ O需直接加到膜中央，并静置2min 后再离心，必要时可进行二次洗脱以提高产量
	吸附柱有乙醇残留	使用Buffer GRW2漂洗后需要开盖晾干吸附柱中的乙醇
RNA降解	样品处理或保存不当	尽量使用新鲜样品或者解冻次数不超过两次的样品
	样品过量，影响裂解液的裂解能力，造成RNase未被充分抑制，导致RNA降解	请参考使用说明推荐取样量，若要增加样品起始量，则后续实验中各溶液量均要等比例增加。对于内源RNase含量较多的组织应减少样品量，可适当增加裂解液用量
	电泳过程中发生降解	使用RNase-Free的Loading Buffer、琼脂糖和缓冲液等
	环境、试剂或耗材中含有RNase	使用RNase-free的试剂及耗材，建议在超净台中操作
DNA污染	样品裂解时加入的试剂量过少	请参考使用说明推荐试剂量
	去除基因组DNA的操作不够	若DNA含量较多，可延长DNase I消化时间或重复消化
	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
过滤柱堵塞	样品用量过多	按照说明书推荐的要求适量取样
	Buffer GSL用量不够	对于富含淀粉的样品或成熟叶片，请将Buffer GSL用量增加至700 μL
	离心温度过低	本产品使用操作均在室温下进行

S250701

