



RNApure Fast Plant Kit

植物RNA快速提取试剂盒

Cat. No. CW0598S

产品简介

本试剂盒采用硅胶柱纯化技术，可从多种植物组织中快速提取总RNA。提取过程无需使用氯仿、 β -巯基乙醇和DTT等有毒试剂，操作简便，提取迅速，只需10 min左右即可完成。试剂盒含有两种裂解液，分别适用于简单植物组织（如水稻、小麦、玉米、烟草、拟南芥、油菜等）、水果果肉（如草莓、枇杷、西红柿、香蕉等）、真菌（如香菇、平菇、金针菇等）、富含多糖多酚植物组织（如松针、银杏叶、小麦种子、土豆、红薯、大豆种子等）的RNA提取。本试剂盒提取的总RNA纯度高，无基因组、蛋白质和其它杂质的污染，可用于Real Time RT-PCR、RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot和体外翻译等多种下游实验。

储存条件：所有组分可在干燥、室温（15-30℃）环境稳定保存。

产品内容

Component	CW0598S 50 preps
Buffer ESL	40 mL
Buffer RSL	40 mL
Buffer PA	40 mL
Proteinase K	500 μ L
Buffer PRW	40 mL
Buffer RW2 (concentrate)	11 mL
RNase-Free Water	10 mL
gDNA-Filter Columns with Collection Tubes	50
Spin Columns RM with Collection Tubes	50
RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 mL)	50

自备试剂

无水乙醇（新开封或提取RNA专用）、RNase-free EP管、离心机、RNase-free枪头、研钵等。

实验前准备及重要注意事项

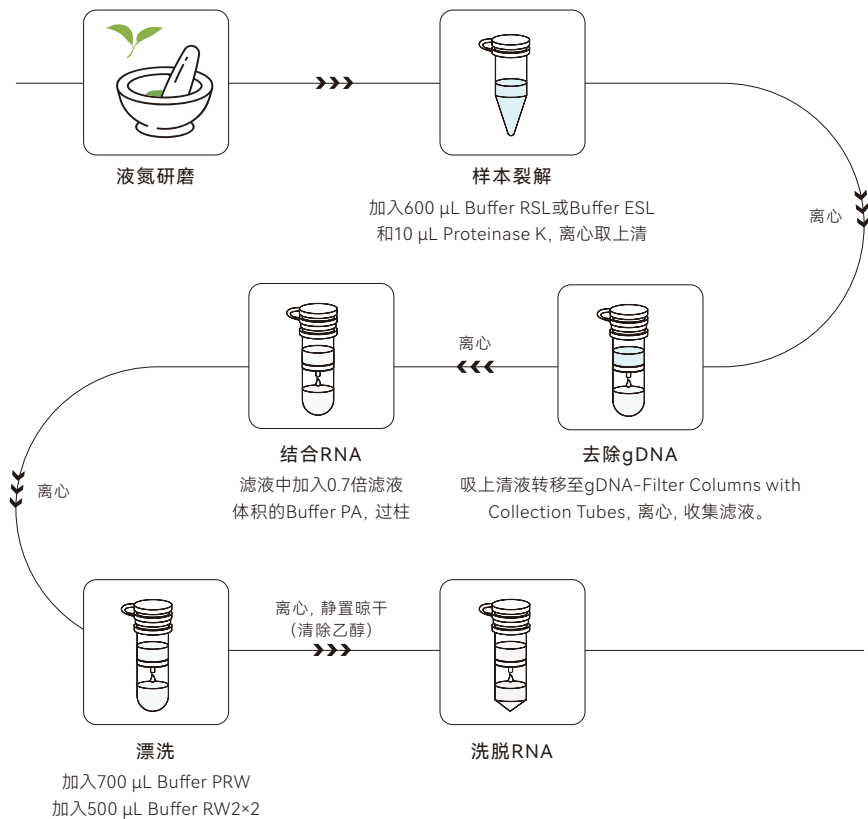
1. 实验前准备

新开封的试剂盒，需按照试剂瓶标签的说明预先在BufferRW2 (concentrate) 中加入对应量的无水乙醇，使用前检查是否加入了无水乙醇，加无水乙醇后须将瓶盖拧紧，防止挥发。

2. 注意事项：

- 2.1 操作人员应戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套，并使用无RNase的塑料制品及枪头，避免RNase污染。
- 2.2 本试剂盒可除去大部分DNA污染，无需DNase I消化即可用于下游实验，但不同的样本或样本的不同投入量核酸含量差异较大，若下游实验对RNA纯度要求比较严格，可选择性的进行DNase I消化，DNase I (CW2090S) 需自行购买。
- 2.3 淀粉含量高的植物组织（如土豆块茎、红薯块茎等）会与裂解液反应产生胶状物质，且裂解时间越长，胶状物质越多，因此样本裂解后应尽快离心取上清加入到gDNA-Filter Columns with Collection Tubes中；取上清时需避免吸取到胶状物质，以免造成gDNA-Filter Columns with Collection Tubes堵塞。
- 2.4 推荐使用新鲜植物样本进行提取，若无法及时提取，样本应液氮冷冻后冻存于-70℃以下。同时应避免反复冻融，否则影响RNA提取得率和质量。
- 2.5 样本投入量应按照说明书推荐的范围进行，若超出或低于推荐投入量，则会导致gDNA残留或RNA得率降低，后续可根据实际实验需要调整投入量。

实验流程



操作步骤

1. 样本处理: 取50-100 mg新鲜植物组织或冻存的植物组织在液氮中迅速研磨成粉末, 加入600 μL Buffer RSL或Buffer ESL和10 μL Proteinase K, 立即剧烈涡旋震荡使其充分混匀裂解, 12,000 rpm离心2 min。

注: 1. 本试剂盒含有两套裂解体系, 针对不同的样本类型可选择不同的裂解液, 普通植物 (如小麦、拟南芥、蚕豆、油菜、豌豆等植物的幼嫩叶片、根茎) 及水果果肉 (如草莓、苹果、西红柿、香蕉等) 推荐使用Buffer ESL, 其余样本推荐使用Buffer RSL。

2. 若不明确样本种类, 推荐优先尝试Buffer RSL。

3. 淀粉含量高的植物组织 (如土豆块茎、红薯块茎等) 裂解后应立刻离心取上清加入到gDNA-Filter Columns with Collection Tubes中; 取上清时需避免吸取到胶状物质, 以免造成gDNA-Filter Columns with Collection Tubes堵塞。

4. 离心后上清有少量漂浮物属正常现象, 可直接进行后续实验, 若漂浮物较多可增加离心时间。

5. 离心后若裂解液粘稠, 可继续加入600 μL Buffer RSL或Buffer ESL和10 μL Proteinase K, 进一步涡旋裂解, 并在下次提取时降低样本用量 (可减少至30-50mg)

2. 吸取上清液 (约500 μL) 转移至gDNA-Filter Columns with Collection Tubes中, 12,000 rpm离心1 min, 弃去gDNA-Filter Columns with Collection Tubes, 收集滤液。
3. 滤液中加入0.7倍滤液体积的Buffer PA (此时可能会出现沉淀或絮状物, 属正常现象), 混合后将混合液转移至Spin Columns RM中, 12,000 rpm离心30 s, 弃废液。

注: 1. 水果果肉类样本推荐加入0.5倍滤液体积的Buffer PA。

2. 若一次不能将全部溶液加入吸附柱中, 请分两次转入。

4. 向Spin Columns RM中加入700 μL Buffer PRW, 12,000 rpm离心30 s, 弃废液。
5. 向Spin Columns RM中加入500 μL Buffer RW2 (使用前检查是否加入无水乙醇), 12,000 rpm离心30 s, 弃废液。
6. 重复步骤5。

注: 该步结束时若柱膜有明显的颜色残留, 可利用 500 μL 无水乙醇漂洗一次。

7. 将Spin Columns RM放回收集管中, 12,000 rpm离心2 min。打开吸附柱管盖, 室温放置1 min, 以彻底晾干吸附柱中的无水乙醇。

注: 晾干的目的是将吸附柱中残余乙醇去除, 乙醇残留会影响后续的酶促反应 (酶切、PCR等)。

8. 将Spin Columns RM转移至一个新的RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 mL) 中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加30-100 μL RNase-Free Water, 室温放置1 min, 12,000 rpm离心1 min。得到的RNA可直接用于下游实验, 或于-70 $^{\circ}\text{C}$ 以下保存。

注: 1. RNase-Free Water体积不应小于30 μL , 体积过小影响回收率。

2. 若要提高RNA的产量, 可将第一次洗脱液重新加入吸附柱进行洗脱, 或将RNase-Free Water 65 $^{\circ}\text{C}$ 预热。