

植物总 RNA 试剂盒说明书

产品组成

植物总 RNA 试剂盒	5 次样品	50 次制备
Cat. No.	5101005	5101050
过滤柱	5 套	50 套
核酸纯化柱	5 套	50 套
Buffer RLT	4 ml	32 ml
Buffer RLC	4 ml	32 ml
Buffer WA	1.9 ml	12 ml
Buffer WBR	1.5 ml	10 ml
RNase-free Water	1.5 ml	2 ml×3
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

试剂盒如果储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

试剂盒包括两套裂解液体系，可以解决各种简单的植物组织、富含多糖多酚的植物组织、水果果肉、真菌等的 RNA 提取。试剂盒提取过程中无需使用酚、氯仿、β-巯基乙醇等有毒试剂，也无需耗时的醇类沉淀，可以快速提取总 RNA。植物组织经裂解液溶解并释放 RNA，补加乙醇后加入纯化柱，RNA 结合在纯化柱上，溶解的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去。RNA 经两种洗液洗涤后，用 RNase-free Water 洗脱，即可用于 RT-PCR、Northern blot、Dot blot、mRNA 分离等各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇和 70% 乙醇
2. RNase-free 1.5 ml 离心管
3. 移液器及吸头（为避免 RNA 酶的污染，建议选用含有滤芯的 RNase-free 移液器吸头）
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 旋涡振荡器
7. 无 RNA 酶使用的实验室

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
2. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。
3. 因为唾液、皮肤上均含有 RNA 酶，所以 RNA 提取的全过程都需要戴乳胶手套和口罩。
4. 若后续实验需要彻底除去 DNA，请增加 DNase I 消化步骤，DNase I 柱上消化试剂盒（Simgen, Cat.No.8010050）需自行购买。

裂解液选用指南

样本种类	推荐用量	样本示例	推荐裂解液	
			Buffer RLT	Buffer RLC
简单植物组织 (幼嫩叶片、茎、根)	50-100 mg	小麦、水稻、玉米、拟南芥、烟草、油菜等	√	
多糖多酚植物叶片		棉花叶、大豆叶、松针、银杏叶、无花果叶、梔子叶等		√
淀粉含量高的植物组织	20-50 mg	小麦种子、玉米种子、红豆种子、土豆、红薯等		√
脂肪含量高的植物组织		大豆种子、芝麻种子、花生种子、油菜籽等	√	√
水果果肉	100-200 mg	西瓜、苹果、桃、梨、香蕉、芒果等	√	
真菌	20-100 mg	香菇、口蘑、平菇、粗糙脉孢菌等		√

* 若不清楚样本种类，可优先选用 Buffer RLC。

操作步骤：

- 根据“裂解液选用指南”确定样本用量及适用的裂解液，用液氮将组织研磨至粉末状，再用液氮预冷的1.5 ml离心管称取适量的组织，加入600 µl Buffer RLT或600 µl Buffer RLC，旋涡振荡直至组织全部溶解，13000 rpm离心2分钟。

* 研磨组织时应及时补加液氮，避免组织融化，以免内源性的 RNA 酶恢复活性而降解 RNA。

* 勿使用过量组织，否则可能导致过滤柱堵塞，并使纯化的 RNA 中混有基因组 DNA 污染。

* 新鲜嫩芽中核酸含量高，基因组 DNA 可能会残留比较多，推荐进行 DNase I 消化。

* Buffer RLT、Buffer RLC 具腐蚀性，请戴防护用品进行操作。

- 将步骤2中的上清液全部倒入过滤柱中，盖上管盖，13000 rpm离心2分钟。

* 上清液中若有少量样本碎片也可被过滤柱除去，不会影响后续实验。

* 如果溶解物不能全部滤过过滤柱，说明组织中核酸含量过高。此时应吸取 300 µl 滤液转移到一个洁净的 1.5 ml 离心管中，再加 300 µl 70%乙醇到 1.5 ml 离心管中并用吸头吸注 6-8 次混合均匀，然后将全部混合液加入到核酸纯化柱中，盖上管盖，13000 rpm 离心 1 分钟。过滤柱及残余的滤液则丢弃不用，然后直接进入步骤 5 的操作。

- 弃过滤柱，向滤液中加入600 µl 70%乙醇并直接用吸头吸注6~8次混合均匀，吸取600 µl 混合液加入到核酸纯化柱中，盖上管盖，13000 rpm离心1分钟。

* 加入 70%乙醇混合后如果有沉淀产生，请将沉淀一起加入到核酸纯化柱中。

- 弃2 ml离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，吸取剩余的混合液加入到核酸纯化柱中，13000 rpm离心1分钟。

* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 离心管在纸上倒扣拍击一次。

- 弃 2 ml 离心管中的滤液，在核酸纯化柱中加入 500 µl Buffer WA，盖上管盖，13000 rpm 离心 1 分钟。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

- 弃 2 ml 离心管中的滤液，在核酸纯化柱中加入 600 µl Buffer WBR，盖上管盖，13000 rpm 离心 1 分钟。

* 确认在 Buffer WBR 中已经加入无水乙醇。

- 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的 RT-PCR 效果。

- 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 RNase-free 的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入 50~100 µl RNase-free Water，盖上管盖，室温静置 1 分钟，13000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免 1.5 ml 离心管管盖脱落而损伤离心机。

- 弃纯化柱，洗脱的 RNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 RNA 储存于 -70℃ 以下备用。