



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°C）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 RW1	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

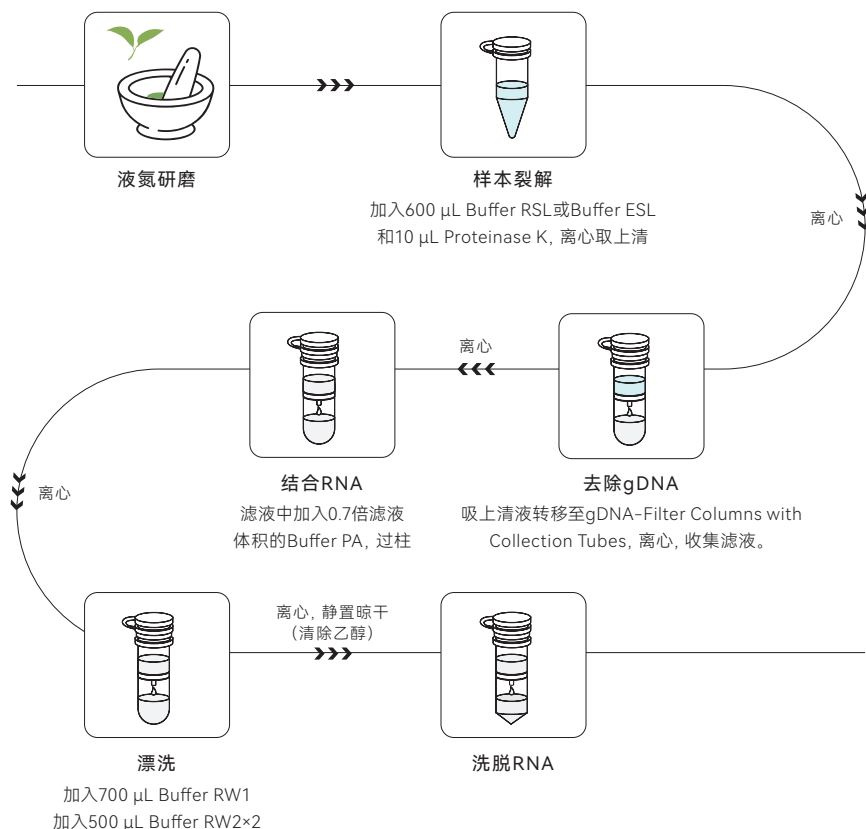
1. 实验前准备

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。

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), 混匀后将混合液转移至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 RW1, 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。
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°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°C 预热。