



增强型多糖多酚植物总RNA提取试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100023

产品介绍

本试剂盒可从植物组织，特别是富含多糖多酚或淀粉的植物组织(棉花叶、大豆叶、松针、银杏叶、无花果叶、栀子叶、小麦种子、玉米种子、红豆种子、土豆、红薯、大豆种子、芝麻种子、花生种子、油菜籽等)、水果果肉(苹果、桃、梨、香蕉、芒果等)、真菌(香菇、口蘑、平菇等)快速提取总 RNA，可同时处理大量不同样品。提取的总 RNA 纯度高，基本没有 gDNA、蛋白和其它杂质的污染。提取出的产物可用于 RT-PCR、RT-qPCR、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、Poly A 筛选、体外翻译、RNA 酶保护试验和分子克隆等多种下游实验。

产品目录

产品名称	规格
增强型多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒	50 rxns

产品组成

组分	50 rxns
裂解液 DL1	30 mL
裂解液 DL2	5 mL
去蛋白液 PS	16 mL
漂洗液 RW	15 mL
RNase-Free ddH ₂ O	10 mL
吸附柱 N8	50 个
收集管	100 个
过滤柱 ES	50 个
无 RNA 酶离心管 (1.5 mL)	50 个
RNase-Free DNase I	250 μL
10× DNA 消化缓冲液	1 mL

产品用途

用于多糖多酚植物和部分真菌的总 RNA 提取。

产品特点

- 1. 提取类型广泛，提取速度快。
- 2. 所得 RNA 完整、纯度高。
- 3. 安全无毒，提取过程中无需使用氯仿、β-巯基乙醇等有毒试剂。

注意事项

- 1. 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致 RNA 酶污染。
- 2. RNA 在裂解液 DL 中时不会被 RNA 酶降解。但在后续处理过程中应使用不含 RNA 酶的塑料和枪头。



3. 首次使用前, 请参考瓶上标签, 在去蛋白液 PS、漂洗液 RW 中加入对应量的无水乙醇, 混匀后使用。

操作步骤

1. 取 50 ~ 100 mg 植物叶片或 100 ~ 200 mg 果实果肉在液氮中迅速研磨成粉末, 加入 500 μ L 裂解液 DL1 混合均匀, 再加入 0.1 倍体积的裂解液 DL2, 涡旋剧烈振荡混匀, 65 $^{\circ}$ C 孵育 10 min。
- 注意:**对于预期 RNA 得率小于 10 μ g 的植物样本, 请适量提高起始样本量; 对于富含淀粉的样本或成熟叶片, 请将裂解液 DL1 用量增加至 700 μ L, 并相应提高裂解液 DL2 的用量。
2. 冰上放置 5 min, 12000 rpm ($\sim$ 13400 $\times$ g) 离心 2 min。
- 注意:**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。
3. 将上清液转移至过滤柱 ES 上 (过滤柱 ES 放在收集管中), 吸取上清液应尽量避免接触细胞碎片沉淀, 12000 rpm ($\sim$ 13400 $\times$ g) 离心 2 min, 小心吸取收集管中的滤液至新的无 RNA 酶的 1.5 mL 离心管 (自备) 中。
4. 缓慢加入 0.5 倍滤液体积的无水乙醇, 混匀, 将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱 N8 (过滤柱 N8 放在一个新的收集管中) 中, 12000 rpm ($\sim$ 13400 $\times$ g) 离心 15 s, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱 N8 放回收集管。
- 注意:**若加乙醇后出现浑浊或有絮状物产生, 属正常现象, 可将混合液(包括絮状物)继续进行后续操作。
5. 向吸附柱 N8 中加入 350 μ L 去蛋白液 PS (使用前请检查是否加入无水乙醇), 12000 rpm ($\sim$ 13400 $\times$ g) 离心 15 s, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱 N8 放回收集管中。
6. DNase I 工作液的配制: 取 3 μ L RNase-Free DNase I 放入新的 RNase-Free 离心管中, 加入 8 μ L 10 $\times$ DNA 消化缓冲液和 69 μ L RNase-Free ddH₂O, 轻柔混匀。
7. 向吸附柱 N8 中央加入 80 μ L 的 DNase I 工作液, 室温放置 10 min。
8. 向吸附柱 N8 中加入 350 μ L 去蛋白液 PS, 12000 rpm ($\sim$ 13400 $\times$ g) 离心 15 s, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱 N8 放回收集管中。
9. 向吸附柱 N8 中加入 500 μ L 漂洗液 RW (使用前请先检查是否加入无水乙醇), 12000 rpm ($\sim$ 13400 $\times$ g) 离心 15 s, 倒掉收集管中的废液,将吸附柱 N8 放回收集管中。
10. 重复步骤 9。
11. 12000 rpm ($\sim$ 13400 $\times$ g) 离心 2 min, 将吸附柱 N8 放入无 RNA 酶离心管 (1.5 mL) 中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 30 ~50 μ L RNase-Free ddH₂O, 室温放置 2 min, 12000 rpm ($\sim$ 13400 $\times$ g) 离心 1 min, 得到 RNA 溶液。
- 注意:**洗脱缓冲液体积不应少于 30 μ L, 体积过小影响回收效率。RNA 样品请在-80 $^{\circ}$ C中保存。若想提高 RNA 产量,可将第一次洗脱液重新加入吸附柱进行洗脱, 也可以 65 $^{\circ}$ C 预热 RNase-Free ddH₂O。

储存和运输条件

RNase-Free DNase I和 10 $\times$ DNA 消化缓冲液置于-25 ~ -15 $^{\circ}$ C保存, 可保存 15 个月, 冰袋运输。
其余试剂室温 (15 ~ 30 $^{\circ}$ C) 保存, 有效期 15 个月, 常温 (15 ~ 30 $^{\circ}$ C) 运输。

常见问题及解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
吸附柱 N8 堵塞	样本投入量过多	减少样本初始投入量。
	样本研磨不充分	尽可能研磨充分, 必要时可加大裂解液的加入量以及延长离心时间。取上清时, 切勿吸到沉淀。
未提取到 RNA 或 RNA 产量低	样本破碎裂解不充分	液氮研磨时, 确保研磨充分, 并迅速转移至预先准备好的裂解液中。
	样本保存不当	建议采用新鲜样本。
RNA 降解	存在 RNA 酶污染	确保提取过程中使用的无 RNA 酶的枪头和离心管。
	电泳原因	电泳前将电泳槽用 3%双氧水浸泡, 然后用 RNase-Free ddH ₂ O 进行冲洗; 电泳缓冲液使用 RNase-Free ddH ₂ O 配制。



抑制下游实验或者 纯度低	盐离子残留	确保漂洗液 RW 洗脱两次；加入漂洗液 RW 时，沿吸附柱管壁四周加入，或者加入后盖盖颠倒混匀 2~3 次。
	乙醇残留	空管离心之后，室温开盖放置 5 min。
基因组 DNA 污染	样本投入量过多	减少样本初始投入量。