

多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)



金普来
Gene-Protein Link

产品货号	G01E04S	G01E04M	G01E04L
产品规格	20T	50T	100T
Buffer A	10mL	25mL	50mL
Buffer B	9.6mL	24mL	48mL
Buffer C	10mL	25mL	50mL
Buffer D	9.6mL	24mL	48mL
Buffer E	2mL	5mL	10mL
RNase-Free ddH ₂ O	5mL	10mL	20mL
DNA清除柱	20管	50管	100管
RNA结合柱	20管	50管	100管
贮存条件	室温	室温	室温

【产品介绍】

本试剂盒采用双离心柱法，可以高效从多糖多酚含量高的植物组织（如拟南芥种子、棉花叶片/种子、香蕉叶片/果肉、桔子果皮、马铃薯块根、洋葱果实、苹果果实、芦荟叶片、番茄果实、花生叶片等）中提取到高纯度高质量的总 RNA（如果植物样本含有低浓度多糖多酚，需选择《植物总 RNA 提取试剂盒》Cat:G01E03）。其中 DNA 清除柱，能有效分离并吸附样品 DNA，而 RNA 结合柱可高效结合 RNA，操作简便省时，从而使获得的 RNA 无降解，无 DNA，无蛋白等杂质。

本试剂盒全程 RNase-Free，全程可在室温条件下操作，无需冰浴和低温离心，无需额外添加 DNase，无需使用异丙醇/氯仿等微毒类试剂，全程 30 min 内完成，适用于多种多糖多酚含量高的植物（新鲜或冻存）组织（≤50mg）的总 RNA 提取及纯化。

采用本试剂盒提取到的总 RNA 可用于多种下游分子实验，例如：cDNA 合成、RT-PCR、Real Time PCR、Northern Blot、Dot Blot、体外翻译、芯片分析、PolyA 筛选、分子克隆和 RNase 保护分析等。

【需要未提供】

- 植物组织及液氮、研磨器
- 无水乙醇
- β-巯基乙醇
- 普通离心机
- RNase-Free 加样器，RNase-Free 离心管/容器等

【使用前准备】

1. 所有实验步骤均在常温 (15~25℃) 进行 (包括离心)，切勿使用冰浴和低温 (4℃) 离心。
2. 使用前，请在 Buffer A 中加入 β-巯基乙醇。按照每 500 μL 的 Buffer A + 10 μL β-巯基乙醇比例，建议现配现用。

注：Buffer A 在加入 β-巯基乙醇后可在 4℃ 放置 1 个月。



3. 使用前, 请在 Buffer B 中加入无水乙醇, 加入量请参照试剂瓶上标签。
Buffer B 中无水乙醇的添加量见下表:

产品货号	产品规格	无水乙醇加入量
G01E04S	20T	12mL
G01E04M	50T	30mL
G01E04L	100T	60mL

4. 使用前, 请在 Buffer D 中加入无水乙醇, 加入量请参照试剂瓶上标签。
Buffer D 中无水乙醇的添加量见下表:

产品货号	产品规格	无水乙醇加入量
G01E04S	20T	25mL
G01E04M	50T	60mL
G01E04L	100T	120mL

5. Buffer A 和 Buffer C 在低温贮存时可能有晶体析出现象, 可将其放置于室温或 37°C 一段时间, 将晶体溶解后混匀再使用。

【使用方法】

1. 确保 Buffer A 已加入 β -巯基乙醇, Buffer B, Buffer D 已加入无水乙醇。
2. 样本处理
取新鲜植物叶片/组织, 置于预冷的研钵中, 尽快充分剪碎, 加入液氮充分研磨。
3. 迅速称取 50mg 上述已研磨粉末, 转移至 Buffer A (已加入 β -巯基乙醇) 中。剧烈震荡混匀后, 室温静置 5min。
注: 研磨完成后, 样本粉末应立即转移, 否则基因组 RNA 会快速降解。
注: 每次样本量不宜超过 50mg。
4. 向上述液体中加入 100 μ L 的 Buffer E, 轻轻混匀。
5. **(可选步骤)** 如果发现组织裂解后的溶液中有比较明显的组织碎片或溶液过于粘稠, 建议 12,000 rpm (~13,400 \times g) 常温离心 2~5min, 取上清液再进行下列操作。
6. 将上述上清液转移至 DNA 清除柱中(已放入收集管), 在 13,300rpm (~17,000 \times g) 离心 2 min。移除 DNA 清除柱, 保留收集管内上清液。
注 1: 如植物组织裂解液比较粘稠, 在转移液体时可以将枪头尖端剪掉, 便于取样。
注 2: 如收集管底部有沉淀存在, 应仔细将上清液转移至干净离心管中再进行步骤 7, 切勿将沉淀吸入上清液中。
7. 仔细将上述上清液转移至新 2 mL 离心管中。根据离心管中上清液体积 (如 500 μ L), 加入 1.5 倍体积 (如 750 μ L) Buffer B (已加入无水乙醇), 轻轻混匀。
8. 取 750 μ L 上述混匀液, 仔细转移至 RNA 结合柱中(已放入收集管), 轻轻盖上结合柱盖子, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
注: 如果混合液中出现絮状沉淀, 请将沉淀一并转移至 RNA 结合柱中。



9. 将 RNA 结合柱放回收集管中，继续将步骤 7 剩余混合液全部加入 RNA 结合柱中，在 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 1 min，弃掉收集管中的废液。
10. 向 RNA 结合柱中加入 500 μL 的 Buffer C，轻轻盖上盖子，在 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 1 min，弃掉收集管中的废液。
注：离心完成后，应小心移走 RNA 结合柱，切勿让结合柱底部接触到收集管内的废液。
11. 向 RNA 结合柱中加入 700 μL 无水乙醇，在 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 1 min，弃掉收集管中的废液。
12. 向 RNA 结合柱加入 700 μL 的 Buffer D（确认已加入无水乙醇），在 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 1 min，弃掉收集管中的废液。
13. 重复步骤 12。
14. 将 RNA 结合柱放回收集管中，12,000 rpm (~13,400×g) 空管离心 2min，弃掉收集管。
注：长时间空管离心以确保彻底清除离心柱上的残留乙醇。
15. 将 RNA 结合柱转移至新的离心管中，向 RNA 结合柱的膜中央滴加 50~200 μL 已于 65℃ 预热的 RNase-Free ddH₂O（切勿将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液），室温放置 2min。然后在 12,000rpm (~13,400×g) 离心 1min，收集 RNA 溶液。
注：加入 RNase-Free ddH₂O 的体积不应低于 50 μL，体积过小会影响洗脱效率。
16. 为提高 RNA 产量，可将离心得到的 RNA 溶液重新加至 RNA 结合柱中，重复步骤 15。
17. 得到的 RNA 溶液可直接用于下游实验或置于 -80℃ 保存（可保存一年）。
注：由于本试剂盒对 RNA 二级结构保护较好，建议凝胶电泳之前，先将得到的 RNA 溶液置于 72℃ 变性处理 5~10min。

【质量控制】

- 本试剂盒中结合柱 RNA 的最大承载量为 80 μg，离心柱液体最大承载量为 700 μL。
- RNA 洗脱回收率与洗脱体系、洗脱次数有关。洗脱液体积不应少于 50 μL，以 50~200 μL 为宜，一般 200 μL 洗脱时，回收率高达 95% 以上。二次洗脱会提高 10% 以上。
- 使用本试剂盒得到的 RNA 产量，与组织的不同种类，初始量，新鲜程度，组织保存时间及实验操作有关。使用 50mg 新鲜嫩叶组织可获得 12~25 μg 总 RNA（仅供参考）。
- RNA 的完整性可以通过变性琼脂糖（**Cat: G06Q02**）凝胶电泳，Safe Red/Green 安全核酸染料（**Cat: G06Q01/G06Q00**）染色之后在紫外光/蓝光下分析。
- RNA 的 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值通常用作核酸纯度的衡量指标。一般情况下，纯 RNA 的 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值在 1.8~2.1。

【注意事项】

- 本实验应在单独 RNA 操作间进行，并在实验前清理好实验桌，实验时佩戴一次性手套、口罩，以避免 RNA 降解。
- 本试剂盒在室温条件下贮存，有效期可达两年。在 2~8℃ 条件下可贮存更长时间。但在低温条件下贮存时，试剂容易产生沉淀。使用前需将试剂在室温条件下放置一段时间，必要时需在 37℃ 水浴中预热 10min，使沉淀溶解后再使用。
- Buffer A、Buffer C 具有刺激性，操作时请进行相关防护措施（佩戴口罩/手套等）。
- Buffer B、Buffer D 具有易燃性，应遵循相应规范流程。
- 样本采集之后，RNA 会很快发生降解，建议立即进行提取。
- 样品应避免反复冻融，否则会导致 RNA 降解。
- 本产品仅用于科学研究用途。

多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)



【相关产品】

货号	产品名称	规格
G01E01	培养细胞总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)	20T/50T/100T
G01E02	动物组织总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)	20T/50T/100T
G01E03	植物总 RNA 提取试剂盒 (双柱法)	20T/50T/100T
G01E05	Total RNA 提取液	10mL/100mL
G01E30	植物基因组 DNA 提取试剂盒	20T/100T/200T
G01E31	动物基因组 DNA 提取试剂盒	20T/100T/200T
G01E32	血液基因组 DNA 提取试剂盒	20T/100T/200T
G01E33	鼠尾基因组 DNA 提取试剂盒	20T/100T/200T
G06Q02	琼脂糖	100g
G06Q00	GPL Safe Green 安全核酸染料	500 μ L
G06Q01	GPL Safe Red 安全核酸染料	500 μ L
G03R01	第一代逆转录预混液 RT-Mix (两步法)	10T/20T/50T
G03R02	第一代逆转录预混液 RT-Mix (一步法)	10T/20T/50T

Version: 20190118 (第一版)

