

# 通用植物总 RNA 提取试剂盒

货号	规格
AF503A	50 次

## 产品说明

### 适用范围:

植物总 RNA 提取

### 试剂盒组分:

Buffer RW1	40ml
Buffer RW2	11ml
Buffer RL	55ml
Rnase-free Water	5ml
Rnase-free 过滤柱 RA	50 个
Rnase-free 吸附柱 RB	50 个

### 保存条件:

Buffer RW2	2-8°C
其它组分	室温保存

本试剂盒用于从各种植物中提取纯化高品质总 RNA, 也适用于真菌菌丝 RNA 的提取。采用硅基质膜吸附 RNA 进行纯化, 使多聚糖等各种污染物通过洗涤被有效去除, 经洗脱的 RNA 可直接用于各种下游实验。由本试剂盒提取 RNA 分子量大于 200 碱基, 纯度高, 几乎无 DNA 残留。如果是对微量 DNA 非常敏感的 RNA 实验, 残留的 DNA 可利用无 Rnase 的 Dnase I 在柱上进行消化去除。提取的 RNA 可用于 Northern Blot、Dot Blot、RT-PCR 和体外翻译等实验。

## 自备试剂

无水乙醇 (新开封或提取 RNA 专用)。

## 实验前准备及重要注意事项

1. 预防 Rnase 污染, 应注意以下几方面:
  - 1) 使用无 Rnase 的塑料制品和枪头, 避免交叉污染。
  - 2) 玻璃器皿应在使用前于 180°C 高温下干烤 4 小时, 塑料器皿可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 分钟, 用水彻底冲洗后高压灭菌。
  - 3) 配制溶液应使用无 Rnase 的水。
  - 4) 操作人员戴一次性口罩和手套, 实验过程中要勤换手套。
2. 提取的样品避免反复冻融, 否则影响 RNA 提取的量和质量。
3. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在 Buffer RW2 中加入无水乙醇, 加入后请及时在方框内打勾标记已加入无水乙醇, 以免多次加入。
4. Buffer RL 如果产生沉淀, 请加热使其溶解后室温放置。
5. 所有离心步骤若无特殊说明均在室温下进行, 且所有操作步骤动作要迅速。
6. 若下游实验对 DNA 非常敏感, 建议用不含 Rnase 的 Dnase I 对 RNA 进行处理。

## 操作步骤

1. 取 1ml 裂解液 RL, 转入 1.5ml 离心管 (自备) 中, 65°C 水浴, 备用。
2. 取植物新鲜组织 50-100 mg, 加入液氮迅速研磨成粉末, 将粉末转入上述装有裂解液的离心管中, 立即涡旋剧烈震荡混匀, 65°C 孵育 10 分钟以使核蛋白体完全分解。
3. 13,000×g 离心 3 分钟, 取上清转入一个过滤柱 RA 中 (若上清表面有漂浮物, 用枪头挑开吸取下面液体即可), 13,000×g 离心 1 分钟, 收集下滤液 (含有总 RNA) 于收集管中, 进行下一步操作。
4. 较精确估计上清液体积, 加入 0.5 倍体积的无水乙醇, 迅速混匀, 加入乙醇后可能会产生沉淀, 但不影响后续试验。
5. 将步骤 4 得到的溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱 RB 中, 若一次不能将全部溶液加入吸附柱中, 请分两次转入。13,000×g 离心 15 秒, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

6. 向吸附柱中加入 700ul Buffer RW1, 13,000×g 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入 500ul Buffer RW2 (使用前检查是否加入无水乙醇), 12,000×g 离心 15 秒, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
8. 重复步骤 7。
9. 13,000×g 离心 2 分钟, 并将吸附柱置于室温数分钟, 以彻底晾干吸附柱中的无水乙醇。

**注意:** 本步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。

10. 将吸附柱置于一个新的无 Rnase 离心管中, 向吸附柱的中间部位悬空加入 30-50ul Rnase-free Water (Rnase-free Water 事先在 70°C 水浴效果更好), 室温放置 1 分钟, 12,000×g 离心 1 分钟, 收集 RNA 溶液, -70°C 保存。

**注意:** 1) Rnase-free Water 体积不应小于 30ul, 体积过小影响回收率。

- 2) 如果要提高 RNA 的产量, 可用 30-50ul 新的 Rnase-free Water 重复步骤 10。
- 3) 如果要提高 RNA 浓度, 可将得到的溶液重新加入到吸附柱中, 重复步骤 10。