

## 植物 RNA 小提试剂盒简明说明书 (R6611)

### 产品简介

本试剂盒提供一种简便、快速的方法，可在 30 分钟内从难提的植物组织中提取 RNA。结合 ezBind RNA 技术的可逆结合特性，并配有专门设计的缓冲液系统，可在 RNA 分离前有效去除 DNA。裂解液通过 DNA Clearance Column，去除基因组 DNA。必要时，使用 DNase I（详见操作步骤）可消除微量的基因组 DNA。

### 产品构成

Catalog#	-00	-01	-02
Preps	10	50	250
Buffer RLY	11 mL	55 mL	275 mL
Buffer RB	8 mL	40 mL	200 mL
RNA Wash Buffer	3 mL	24 mL	3x24 mL
DEPC-Treated ddH <sub>2</sub> O	1 mL	10 mL	50 mL
Plantaid	1.1 mL	5.5 mL	27.5 mL
DNA Clearance Columns	10	50	250
RNA Columns	10	50	250
2 mL Collection Tubes	20	100	500
1.5 mL RNase-free Microfuge Tubes	10	50	250
User Manual	1	1	1

### 要点

- RNA Wash Buffer：使用前请将 12 mL (R6611-00)或 96 mL (R6611-01)或 96 mL (R6611-02) 96-100%乙醇加入至 RNA Wash Buffer 瓶内。

- Buffer RLY：使用前在 Buffer RLY 内加入 1%的β-巯基乙醇，并储存于 4°C。
- 所有操作（包括离心）均在室温下进行。

### 产品贮存及稳定性

本试剂盒自生产之日起可保存 12 个月。所有试剂及用品可保存于室温（15-25°C）。

### 实验前需准备的材料

- 96-100%乙醇
- β-巯基乙醇
- 小型台式离心机

### 操作步骤

1. 称取 100 mg 植物组织于一个 2 mL 离心管内，液氮快速冷冻组织并用研杵研磨。

2. 快速转移 **10 倍体积（1 mL）** 的 **Buffer RLY**/β-巯基乙醇和 **1 倍体积（100 μL）** 的 **Plantaid** 至载有样品的离心管内，再次使用研杵研磨，12,000 rpm 离心 2 min。

**注：**使用前在 1 mL 的 Buffer RLY 内加入 10 μL 的β-巯基乙醇。

3. 转移澄清的裂解液至一个 **DNA Clearance Column**（自带 **2 mL Collection Tube**）内，13,000 rpm 离心 2 min，丢弃 **DNA Clearance Column**，保留滤液。

**注：**该步骤用于去除基因组 DNA。

4. 加入 0.5 倍体积的无水乙醇（例如：250 μL 无水乙醇加入至 500 μL 裂解液中）。

5. 将上述混合液转移至一个 **RNA Column**（自带 **2 mL Collection Tube**），13,000 rpm 离心 1 min，弃滤液，将 **RNA Column** 放回 **2 mL Collection Tube**。

6. 加入 **500 μL Buffer RB**，13,000 rpm 离心 30 s，弃滤液。

7. 加入 **500 μL RNA Wash Buffer**，13,000 rpm 离心 1 min，弃滤液。

**注：**确保使用前在 RNA Wash Buffer 内按要求加入一定量的乙醇。

8. 加入 **500 μL RNA Wash Buffer**，13,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将 **RNA Column** 放回 **2 mL Collection Tube**，打开柱子盖子。

9. 13,000 rpm 离心 2 min，弃滤液。

**注：**开盖离心更有利于残留乙醇的去除。

10. 将 **RNA Column** 转移至一个 **1.5 mL RNase-free Microfuge Tube**，在膜中央加入 **30~50 μL DEPC-Treated ddH<sub>2</sub>O**，13,000 rpm 离心 1 min。

**可选：**将洗脱下来的 RNA 溶液再次上柱，13,000 rpm 再次离心。RNA 存在于滤液中，将 RNA 溶液储存在-20°C。

**注：**强烈建议在开始下游实验前确定 RNA 的质量，RNA 的质量可通过溴化乙锭染色变性琼脂糖凝胶电泳测定。凝胶上应该出现几条清晰的条带，包括 28 S 和 18 S 核糖体 RNA 条带，以及一定的 mRNA 条带。若这些条带向较低分子量的 RNA 弥散，那么 RNA 在制备、处理或储存过程中发生了很大降解，低于 200 个碱基的 RNA 分子不能有效地结合 RNA Column。A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> 的值在 1.8~2.0 相当于 90~100%的纯核酸。

### 可选步骤：使用 DNase 消化去除基因组 DNA

一些下游实验例如低丰度的靶基因 RT-PCR，对少量的 DNA 非常敏感，需要用到 DNase 消化。通常来说，不需要这样做，因为本试剂盒已选择性提取 RNA 并去除了绝大部分 DNA。若存在

DNA 污染，可以减少组织或细胞的使用量。

## 常见问题解答

问题	可能原因	建议
A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub> 比值低	蛋白污染	使用苯酚：氯仿萃取，RNA 损失预计在 40% 以内。
	硫酸胍污染	加入 2.5 倍体积的乙醇和 0.1 M 的 NaCl（终浓度）来沉降 RNA，-20℃ 孵育 30 min，4℃，10,000 x g 离心 15 min，用 DEPC-Treated ddH <sub>2</sub> O 重悬 RNA 沉淀。
低得率	样品中 RNA 已降解	采集样品后快速液氮冷冻并储存于 -70℃。
	样品加载量超过了 RNA 柱的最大吸附能力	减少组织样品的加入量。
	乙醇没有加入至 RNA Wash Buffer 中	纯化前在 RNA Wash Buffer 内按要求加入一定量的乙醇。
基因组 DNA 污染	RT-PCR 加入过量 RNA	减少 RT-PCR 反应时 RNA 的加入量，控制在 50~100 ng。
	样品富含 DNA	减少样品初始使用量，30 mg 左右的样品初始使用量大多不会出现基因组污染的情况。减少细胞数目至 1~2 x 10 <sup>6</sup> ，增加 buffer 的使用量，分批次多上几次 RNA 柱子。

杭州倍沃医学科技有限公司

BIOMIGA（中国）

[www.biomiga.com.cn](http://www.biomiga.com.cn)

400-115-2855

[info@biomiga.com.cn](mailto:info@biomiga.com.cn)