

Flying Shark[®] Plant Total RNA Kit

植物总 RNA 快速提取试剂盒

目录号: **RNE31**

试剂盒组成

Component	RNE31 (50 preps)
Buffer HL	30 ml
Buffer RW1	40 ml
Buffer RW2 (concentrate)	13 ml
	(使用前按瓶上标签加入无水乙醇)
RNase-free H ₂ O	10 ml
Spin Columns RA with Collection Tubes	50

保存方法

室温 (15-30℃) 保存。

产品介绍

本试剂盒配备强力裂解液 HL, 适用性非常广泛, 可以从多种植物/真菌组织 (包括多糖多酚) 中成功提取高质量总 RNA, **包括其感染的病毒 RNA**; 也适用于一些细菌和一些酵母的总 RNA 提取。

独特的裂解液配方, 迅速裂解细胞和灭活细胞核酸酶, 有效去除多糖多酚对 RNA 提取的影响, 无需苯酚、氯仿等试剂。高吸附硅基质膜 (Spin Columns RA) 对 RNA 进行吸附纯化, 最后 RNase free H₂O 将纯净的 RNA 从硅基质膜上洗脱。

自备试剂

无水乙醇、β-巯基乙醇 (选用)

实验前请阅读注意事项

1. 提取的样品避免反复冻融, 否则影响 RNA 提取得率和质量。
2. 低温时如果 Buffer HL 产生沉淀, 请水浴加热使其溶解后使用。
3. 第一次使用 Buffer RW2 前应按照试剂瓶标签的说明加入无水乙醇。
4. 液氮研磨后, 植物细胞被破坏, 内源性 RNase 被释放出来, 若此时失去低温的保护, RNA 容易被内源性 RNase 降解, 因此**建议研磨样品前先准备好 Buffer HL, 再进行研磨,**

并将研磨好的粉末迅速转入 Buffer HL 中混匀，RNA 在 Buffer HL 中不会降解（具体方法见操作说明第 1-2 步）。

5. 本试剂盒不包含基因组去除步骤，提取的总 RNA 可直接用于 RT-PCR，或者去除基因组残留（如使用带有 DNA 去除步骤的反转录试剂盒）后用于 RT-qPCR 和芯片分析等实验。

操作步骤

1. 取 600 μ l Buffer HL 至 1.5 ml 离心管中备用。
注意：富含多酚的样本需加入 β -巯基乙醇至 5%，如 570 μ l Buffer HL+30 μ l β -巯基乙醇， β -巯基乙醇可以防止 RNA 降解。其他样本无需加入。
2. 匀浆处理：取 20-100 mg 植物或真菌组织在液氮中迅速研磨成粉末，转入上述装有 Buffer HL 的离心管中，立即剧烈涡旋振荡 30 s，彻底匀浆，不要有聚集成团的组织块。
注意：1）对于果肉类等含水量极其丰富的材料，可以适当多加入些组织，最多可增加至 100-200 mg；对于富含淀粉的样本或成熟叶片，可适当减少样本量。2）由于植物多样性非常丰富，而且同种植物的不同生长发育阶段和不同组织的 RNA 含量都不相同，请根据具体实验情况选择合适的植物材料的用量。
3. 12,000 rpm ($\sim$ 13,400 $\times$ g) 离心 2 min，转移上清约 500 μ l 至新的 1.5 ml 离心管中。
注意：上清体积可根据实际情况做出相应调整。
4. 加入 0.5 倍上清体积的无水乙醇（约 250 μ l，根据上清实际情况调整），涡旋混匀。
注意：加醇混匀后可能会出现浑浊或有絮状沉淀产生，属于正常现象，可将混合液（包括絮状沉淀）继续进行后续操作。
5. 将得到的溶液和可能产生的沉淀一起转入已装入收集管的吸附柱（Spin Columns RA）中，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液，将吸附柱重新放回收集管中。
6. 向吸附柱 RA 中加入 700 μ l Buffer RW1，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
7. 向吸附柱 RA 中加入 600 μ l 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。
8. 重复步骤 7。
9. 将吸附柱放回空收集管内，12,000 rpm 离心 2 min，弃收集管。
注意：这一步的目的是去除吸附柱中残余乙醇，乙醇残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。
10. 将吸附柱 RA 放入新的 RNase-free 离心管中，向吸附柱的中间部位悬空滴加 30-50 μ l RNase-Free H₂O，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min，得到的 RNA 溶液可直接用于下游实验或-70℃保存防止降解。
注意：1）RNase-Free H₂O 体积不应少于 30 μ l，体积过小影响回收效率。2）RNase-Free H₂O 提前 65℃预热可以增加产量。3）将得到的 RNA 溶液再次加入到吸附膜上进行二次洗脱也可以增加产量。