

For research use only

Version Number: 2.0

Plant Total RNA Isolation Kit

For total RNA purification from general plant samples containing low polysaccharide and polyphenol components

试剂盒组成	RE-05011	RE-05014
	50 T	200 T
Buffer PRL1*	25 mL	100 mL
Buffer PRL2	16.5 mL	66 mL
Buffer PRW1*	25 mL	100 mL
Buffer PRW2	24 mL	96 mL
RNase-Free ddH ₂ O	10 mL	40 mL
RNA-Only Column	50 套	200 套
DNA-Cleaning Column	50 套	200 套
说明书	1 份	1 份

*: Buffer PRL1、Buffer PRW1 中含具刺激性的离液盐，操作时请注意佩戴手套、口罩及其他相关防护措施。

产品简介

该试剂盒采用本公司研制的离心柱和配方，可以从各种多糖多酚含量低的植物组织中高效率的提取得到高纯度高质量的总 RNA；如果植物样本多糖多酚含量偏高，建议使用 Plant Total RNA Isolation Kit Plus 以得到更好的 RNA 提取效果。试剂盒提供的高效 DNA-Cleaning Column 能轻松的让上清液和组织裂解物分离并吸附除去基因组 DNA，操作简便、省时。

产品应用

该试剂盒适用于多糖多酚含量低的新鲜或冻存的植物组织样本(尤其是新鲜植物叶片组织)总 RNA 的提取纯化。提取得到的总 RNA 可用于各种下游分子实验,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。

储存条件

❖ 本试剂盒在常温(15-25℃)干燥条件下，可保存 24 个月。

注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ❖ 如提取的 RNA 用于克隆全长 cDNA，每 1 mL Buffer PRL1 加入 10 μL β-巯基乙醇(建议现配现用)，Buffer PRL1 在加入β-巯基乙醇后可在 4℃放置 1 个月。

如提取的 RNA **仅用于 qPCR 或测序分析等其他下游操作，可以选择不加β-巯基乙醇**，不会影响提取效果。
- ❖ 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。**
- ❖ 样品应尽量选择新鲜样本，冻存样本避免反复冻融，否则会导致提取的 RNA 降解或产量降低。
- ❖ 新鲜植物叶片的单次用量**请勿超过 50 mg**，否则会影响 RNA 产量和纯度。
- ❖ 试剂盒使用前，请在 **Buffer PRL2** 中添加无水乙醇，加入量请参照试剂瓶上标签。
- ❖ 试剂盒使用前，请在 **Buffer PRW2** 中添加无水乙醇，加入量请参照试剂瓶上标签。
- ❖ RNA 产率和质量与植物样本用量和洗脱体积有关。建议每 500 μL Buffer PRL1 使用组织量 50 mg，洗脱液体积应不少于 50 μL，否则会影响 RNA 产量。
- ❖ 请检查试剂盒中的 Buffer PRL1 和 Buffer PRW1 是否有**晶体析出**现象，若有晶体析出（通常为环境温度过低导致），可将 Buffer 放置于室温或 37℃一段时间，待晶体溶解后混匀再使用。

材料取用说明

多糖多酚含量低的植物组织：单次处理，用量请勿超过 50 mg。

操作步骤(全程常温(15-25℃)操作，切勿冰浴和低温离心)

使用前请先在 Buffer PRL2 和 Buffer PRW2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

请检查试剂盒中的 Buffer PRL1 和 Buffer PRW1 是否有晶体析出现象，若有晶体析出（通常为环境温度过低导致），可将 Buffer 放置于室温或 37℃ 一段时间，待晶体溶解后混匀再使用。

1. 取适量新鲜植物叶片或其他组织，尽量剪碎后置于预冷的研钵中，加入液氮充分研磨。
2. 迅速称取 **50 mg** 研磨好的新鲜植物叶片或其他组织粉末，转移至预加入 **500 μL Buffer PRL1** 的 2 mL 离心管中，剧烈震荡混匀。

注意：组织量不要超过 50 mg，否则会导致提取 RNA 的产量、质量下降。在植物叶片粉末融化之前迅速转移，否则 RNA 在室温环境下极易发生降解。

3. 将所有裂解液转移至 DNA-Cleaning Column 中(DNA-Cleaning Column 放入收集管中)，13,300 rpm (~17,000 ×g)离心 **1 min**。移除 DNA-Cleaning Column，保留收集管内上清液。

注意：

3.1 若植物组织裂解液过于粘稠或存在有比较明显的组织碎片，可 12,000 rpm (~13,400 ×g) 离心 2-5 min，取上清进行此步操作。

3.2 若通过 DNA-Cleaning Column 离心后收集管底部出现沉淀，请小心地将上清液转移至干净离心管中再进行步骤 4，切勿将沉淀吸入上清液中。

4. 小心转移收集管中的上清液到 2 mL 新的 RNase-Free 离心管(需自备)中，向其中加入 **1.7 倍(约 850 μL)** 体积 **Buffer PRL2**(使用前请确认已按照说明加入无水乙醇)，混匀备用。

注意：Buffer PRL2 加入量请按照实际操作过程中上清液的体积进行比例换算加入。例如：500 μL 上清液中加入 850 μL Buffer PRL2(已加入无水乙醇)。

5. 将 **750 μL** 上述混合液小心转移至 RNA-Only Column 中(RNA-Only Column 放入收集管中)，12,000 rpm (~13,400 ×g)离心 **10 sec**，弃掉收集管中的废液。
注意：如果混合液中出现絮状沉淀，请将沉淀一并转移至 RNA-Only Column 中。
6. 将 RNA-Only Column 放回收集管中，将剩余混合液全部加入 RNA-Only Column 中，12,000 rpm (~13,400 ×g)，离心 **10 sec**，弃掉收集管中的废液。
7. 向 RNA-Only Column 中(RNA-Only Column 放入收集管中)加入 **500 μL Buffer PRW1**，12,000 rpm (~13,400 ×g)离心 **10 sec**，弃掉收集管中的废液。
8. 向 RNA-Only Column 中(RNA-Only Column 放入收集管中)加入 **700 μL 无水乙醇**，12,000 rpm (~13,400 ×g)离心 **10 sec**，弃掉收集管中的废液。

9. 向 RNA-Only Column 中(RNA-Only Column 放入收集管中)加入 **700 μL Buffer PRW2**(使用前请确认已按照说明加入无水乙醇)，12,000 rpm (~13,400 ×g)离心 **10 sec**，弃掉收集管中的废液。
10. 将 RNA-Only Column 放回收集管中，12,000 rpm (~13,400 ×g)空管离心 **2 min**，弃掉收集管，将 RNA-Only Column 转移至新的离心管中。
11. 向 RNA-Only Column 的膜中央位置滴加 **50-100 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 **2 min**。12,000 rpm (~13,400 ×g)离心 **1 min** 收集 RNA 溶液。

注意：RNase-Free ddH₂O 加入体积不应低于 50 μL，体积过小会影响洗脱效率。

为提高 RNA 产量，可将离心得到的 RNA 溶液重新加至 RNA-Only Column 中，重复步骤 11。得到的 RNA 溶液可直接用于下游实验或置于 -80℃ 保存。

