

RaPure Plant RNA Kit

植物 RNA 快提试剂盒(单柱型)

本产品适合于从快速从植物样品中提取高纯度总 RNA。试剂盒结合了两种高效的 RNA 抽提技术，将一步法的 RNA 抽提技术和硅胶柱 RNA 纯化技术结合起来，可最大程度上提高 RNA 的纯度。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern Blot、poly A⁺ 纯化、核酸保护和体外翻译等实验。

产品组份

产品编号	R4014-01	R4014-02	R4014-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
HiPure RNA Mini Columns	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
PlantZol Reagent	15 ml	60 ml	270 ml
Buffer BCP	1.5 ml	6 ml	30 ml
Buffer GDP	6 ml	30 ml	150 ml
Buffer RW1	10 ml	50 ml	250 ml
Buffer RW2*	5 ml	20 ml	2 x 50 ml
RNase Free Water	1.8 ml	10 ml	30 ml
说明书	1	1	1

版本号：2021-10

保存条件

本产品除 PlantZol Reagen 外，其它组份可在室温保存 18 个月，长期保存时需置于 2~8℃。PlantZol Reagent 采用室温运输，收到产品后，把 PlantZol Reagent 保存于 2~8℃。

准备事项

- 在 Buffer RW2 中，加入 4 倍体积无水乙醇，于室温保存。

实验步骤

1. 根据实验条件或样品类型，选择研磨方法：

直接研磨法（易研磨样品）：称取新鲜或冰冻样品 50~150mg，并迅速处理成小碎片放入研钵中，加入~1.2ml PlantZol Reagent，研磨成匀浆液。转移 1ml 匀浆液至 1.5ml 离心管中。

液氮研磨法：用液氮将植物或真菌样品磨成粉末，称取 50-150mg 粉末至离心管中，立即加入 1ml PlantZol Reagent，涡旋打散样品，室温放置 5 分钟。也可以直接加入~1.2ml PlantZol Reagent 至研钵中，进一步将粉末研磨成匀浆液，然后转移 1ml 匀浆液至 1.5ml 离心管中。

可选：60 度温育 10 分钟可以提升裂解效果从而提高 RNA 产量。

2. 加入 100 μ l Buffer BCP 或 200 μ l 氯仿至裂解液中，高速涡旋混匀 15 秒。
3. 4 度，13,000 \times g 离心 5 分钟。（若无低温离心，也可以在室温下离心）。
4. 转移~500 μ l 上清液至新的离心管中，加入 500 μ l Buffer GDP 至上清液中，涡旋混匀 15 秒，放置 2 分钟。
5. 加入 500 μ l 无水乙醇至样品中，涡旋混匀 15 秒。
5. 把 HiPure RNA Mini Column 装在 2ml 收集管中。转移一半体积混合液至柱子中。10,000 \times g 离心 30~60 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。转移余下的混合液至柱子。10,000 \times g 离心 30~60 秒。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 600 μ l Buffer RW1 至柱子中，10,000 \times g 离心 30~60 秒。

若需彻底去除 DNA，建议订购 (R4911) DNase on Column Kit 进行膜上 DNase 消化。

8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 600 μ l Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱子中，10,000 \times g 离心 30~60 秒。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 600 μ l Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱子中，10,000 \times g 离心 30~60 秒。
10. 倒弃流出液，把柱子装回收集管。13,000 \times g 离心 2 分钟。
11. 将柱子转移至 1.5ml 离心管，加入 30~100 μ l RNase Free Water 至柱子膜中央。室温静置 2 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。
12. 弃去柱子，把 RNA 保存于-80 $^{\circ}$ C。

附加方案(复杂样品)

由于植物或真菌样品代谢物质含量极为复杂，PlantZol Reagent 只能解决部分样品的 RNA 抽提，对于复杂样品(如茶叶/葡萄)等富含多酚类样品，需另外订购 Buffer PRR(60ml, 货号: PRR-60)，按以下步骤进行抽提。Buffer PRR 含有高浓度 2-巯基乙醇，需要在通风橱中进行操作。由于该方案对 DNA 污染去除效果较差，建议采用 DNase 膜上消化去除 DNA 污染，或直接订购 R4165 或 R4165B 处理疑难样品。研究表明，Buffer PRR 或 R4165/R4165B 试剂盒可以解决各种疑难样品。

1. 根据实验条件或样品类型，选择研磨方法：

直接研磨法(易研磨样品)：称取新鲜或冰冻组织样品 50~150mg，并迅速处理成小碎片放入研钵中，加入~1.0ml Buffer PRR，室温研磨成匀浆液。转移 0.7ml 匀浆液至 2.0ml 离心管中。

液氮研磨法：用液氮将植物或真菌样品磨成粉末，称取 50-150mg 粉末至离心管中，立即加入 0.7ml Buffer PRR，涡旋打散样品，室温放置 5~10 分钟。也可以直接加入~1.0ml Buffer PRR 至研钵中，进一步将粉末研磨成匀浆液，然后转移 0.7ml 匀浆液至 2.0ml 离心管中。

2. 加入 700 μ l 氯仿至裂解液中，高速涡旋混匀 15 秒。
3. 室温，13,000 x g 离心 3 分钟。按标准方案的第 3~11 步进操作。

常见问题

1. 提取的 RNA 产量低或降解了

- **电泳原因：**常见的 RNA 降解现象都是电泳过程中引起的。更换新的 Loading Buffer 和电泳缓冲液。
- **RNase Free Water 被污染：**RNase Free Water 不含抑菌剂，室温放置或操作时可能会引入细菌或真菌污染。更换新的 RNase Free Water 或 DEPC 处理水。
- **洗脱不充分：**RNase Free Water 需直接加到膜上，并静置几分钟后再离心，进行第二步洗脱以提高产量。

2. DNA 的污染

- **上清液转移得太多：**建议只转移上清 400~450 μ l，中间层富含 DNA。
- 样品用量太多。

3. 纯度低(OD260/OD280<1.65)

- 加入氯仿时没有剧烈振荡，不要用涡旋或颠倒混匀
- 氯仿过量加入
- 裂解不够充分，匀浆后须室温放置 5 分钟
- 减少样品用量；