

# 植物 RNA 快速提取试剂盒

## 四 .DNA 清除（可选步骤）

1.接样品纯化步骤（二，5）。

DNase I 工作液配置：取 RNase-free 离心管，加入 DNase I 反应液 48uL，DNase I 溶液 2uL。吹打混匀。（DNase I 置于-20℃保存）

2.将 DNase 工作液在 37℃预热 1 分钟，然后全部加入到 RNA 纯化柱中，室温放置 2 分钟。

**注意：**2 分钟一般足够降解大多数情况下的 DNA 污染。如果 DNA 没有彻底降解（可能由于样品中残留的杂质抑制了 DNase 的活性），此步骤可以延长到 5 分钟或 10 分钟。

3.直接在纯化柱中加入 0.7mLRNA 洗涤液，室温离心半分钟，弃穿透液。

4.接 RNA 收集步骤（三）。

# 植物 RNA 快速提取试剂盒

## （多糖多酚）

## 使用说明书

（2017 版）

产品货号：RE661-50T

保存条件：4℃保存，保质期 2 年。DNase I 请置于-20℃保存。

产品内容：

产品名称	包装组成
裂解液	50mL
RNA 纯化液	20mL
RNA 结合液	50mL
RNA 洗涤液	100mL
RNA 纯化柱	50 套
RNA 溶解液	10mL
DNase I 溶液	100uL
DNase I 反应液	3mL
说明书	1 份

# 植物 RNA 快速提取试剂盒

产品说明：Coolaber 植物 RNA 快速提取试剂盒适用于绝大多数植物（包含多酚复杂植物样本）RNA 提取，可以简单快速地从各种来源的植物组织中纯化高质量的总 RNA。纯化好的总 RNA 可用于 mRNA 分离，RT-PCR，Northern 杂交等下游分子实验。

## 操作步骤：（样品裂解，样品纯化，RNA 收集）

离心条件均优先选择 4℃，室温离心也可以。

### 一：样品裂解

#### 1. 液氮研磨法

取 1mL 裂解液加入 1.5mL 离心管中。将 100mg 植物组织用液氮研磨成粉末，将其转移到含有裂解液的离心管中，立即剧烈振荡 20 秒后用枪头吹打混匀或涡旋震荡使样本充分裂解。

#### 2. 匀浆法

先将植物组织剪切成小块，放入 10-15 mL 塑料离心管中，加入 1 mL 裂解液。然后用匀浆器匀浆 5-20 秒，确定大部分样品破碎后（匀浆会产生大量泡沫，间断匀浆避免温度过高和泡沫溢出，不影响效果）。将裂解液转移至 1.5mL 离心管中。

**注意：**低温可能导致裂解液有白色悬浮物，请置于 65℃ 水浴充分溶解后使用。

裂解液含巯基乙醇，请于通风橱内操作。

### 二：样品纯化

1. 将裂解物 12,000rpm 离心 2-3min，吸取上清 1mL 到 1.5mL 离心管。

2. 在上清中加入 0.3 mL 的 RNA 纯化液 和 0.2 mL 自备氯仿，在振荡器上振荡 30 秒，溶液呈均匀的乳浊状。

**注意：**如样品简单，此步可省略。具体操作为：吸取上清 1mL，继续 12,000 rpm

# 植物 RNA 快速提取试剂盒

离心 10min，取上清后接步骤（二，4）加等体积 RNA 结合液，上纯化柱。

3. 12,000rpm 离心 3-5min，取上清到新的 1.5mL 离心管中（避免触及分层界面，下层会有大量 DNA 和蛋白污染，避免污染。）

4. 上清中加入等体积的 RNA 结合液，颠倒混匀，分两次加入同一个 RNA 纯化柱中（如有絮状物或沉淀产生，一并加入纯化柱中）。12,000rpm 离心 1min，弃穿透液。

5. 在纯化柱中加入 0.5mL RNA 洗涤液，室温 12,000rpm 离心半分钟，弃穿透液。重复洗涤一次。（洗涤液使用后拧紧瓶盖，防止挥发）

6. 如需去除 DNA 污染，参照步骤（四）可选步骤，用 DNase I 处理。

### 三：RNA 收集

1. 将结合有 RNA 的纯化柱 12,000rpm 离心 1min，甩干乙醇。（乙醇的残留将会降低洗脱效果和影响下游实验，或者适当延长离心时间，将有助于乙醇的去除）

2. 弃收集管，将柱芯转移到 1.5mL 的 RNase-free 离心管中（自备），加入 30-50uLRNA 溶解液，室温放置 1 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟洗脱 RNA。得到的 RNA 可直接用于后续实验或者 -80℃ 存放。

3. 如果要提高 RNA 产量，加入 30-50uLRNA 溶解液重复洗脱一次，合并两次穿透液；如果要提高 RNA 浓度，使用第一次的洗脱液 加回到吸附柱中重复洗脱。

**注意：**建议 RNA 用于下游实验之前，先进行质量检测。经变性琼脂糖凝胶电泳后，会有清晰的 28S 和 18S 条带，以及中间弥散的 mRNA 条带，其中 28S 条带是 18S 条带亮度的 1.5-2 倍。有时还包括跑在最前面的较暗的 5S 条带。如果条带不清晰或者弥散，可能是提取过程中或者材料保存过程中 RNA 发生了降解。小于 200bp 的 RNA 分子不能有效结合到吸附柱上。A260/A280 比值 1.8~2.0 对应 RNA 纯度 90-100% 之间。