

Flying Shark™ Universal Plant RNA Kit (gDNA-Filter)
广谱型植物 RNA 提取试剂盒 (gDNA-Filter)

目录号: **RNE33**

试剂盒组成

Component	RNE33 (50 preps)
Buffer HL	30 ml
Buffer RW1	40 ml
Buffer RW2 (concentrate)	13 ml (<i>Add indicated ethanol before first use</i>)
RNase-free H ₂ O	10 ml
gDNA-Filter Columns with Collection Tubes	50
Spin Columns RA with Collection Tubes	50

保存方法

室温 (15-30°C)。



本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品介绍

本试剂盒配备强力裂解液 HL，适用性非常广泛，可以从多种植物组织（包括多糖多酚植物、海洋藻类）中成功提取高质量 RNA，也适用于真菌及各种富含糖类、酚类的动物组织如低等的软体动物、昆虫等样品的 RNA 提取，也适用于一些细菌和一些酵母的 RNA 提取。

独特的裂解液配方，迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 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。本试剂盒使用 gDNA-Filter Columns 去除基因组 DNA，乙醇调节结合条件后，RNA 吸附于硅基质膜上，使得提取的总 RNA 纯度高、gDNA 残留少、无蛋白质和其它杂质的污染，可用于 Real Time RT-PCR、RT-PCR、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、PolyA 筛选、体外翻译和分子克隆等多种下游实验。

RNA 得率

植物叶片 (100 mg)	总 RNA 量 (µg)
小麦	~55
枸杞	~65
拟南芥	~50
连翘	~60

自备试剂

无水乙醇、β-巯基乙醇（选用）

实验前准备及重要注意事项

1. 使用 RNase-free 的离心管和吸头；避开经常使用 RNase 的区域，以免 RNase 气溶胶污染。
2. 提取的样品避免反复冻融，否则影响 RNA 提取得率和质量。
3. 低温时如果 Buffer HL 产生沉淀，请水浴加热使其溶解后使用。
4. 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。
5. 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）。
6. 本试剂盒可去除体系中大部分的 DNA 污染，纯化获得的 RNA 通常无需使用 DNase I 处理即可用于下游实验操作。不同样本核酸含量相差大，如果下游实验对痕量 DNA 十分敏感，可以使用 DNase I 进一步清除 DNA 污染，或在逆转录时选择含有基因组去除模块的逆转录试剂，推荐使用 Rescript II RT SuperMix for qPCR (+gDNA Eraser) (Nobelab #R712)或其他公司同类产品。

操作步骤 (以下所有离心步骤均在室温下进行)

1. 取 **600 μ l Buffer HL** 放入 1.5 ml 离心管中备用。
注意：通常情况下无需使用 β -巯基乙醇。针对多酚含量非常高的样本，可在裂解液中加入 β -巯基乙醇至 5%，如 570 μ l Buffer HL+30 μ l β -巯基乙醇， β -巯基乙醇可防止 RNA 降解。
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**；对于富含淀粉的种子样本或成熟叶片，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 (~13,400 \times g)** 离心 2 min。
4. 取上清液约 500 μ l 到已装入收集管的 gDNA 清除柱(gDNA-Filter Columns)中，**12,000 rpm 离心 1 min**，弃掉 gDNA-Filter Columns，保留滤液 (RNA 在滤液中)。
注意：1) 上清体积可根据实际情况做出相应调整。2) gDNA-Filter Columns 对杂质有较好的过滤作用，吸取少量样本碎片不会影响后续操作。
5. 向收集管中加入 **0.5 倍滤液体积** 的无水乙醇 (约 250 μ l，根据上清实际情况调整)，涡旋或反复吸打混匀。
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。
6. 将得到的溶液和可能产生的絮状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。
7. 向吸附柱 RA 中加入 **700 μ l Buffer RW1**，**12,000 rpm 离心 30 s**，弃废液。
8. 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。
9. 重复步骤 8。
10. 将吸附柱放回空收集管内，**12,000 rpm 离心 2 min**。
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)。
11. 将吸附柱 RA 放入新的离心管中，向吸附膜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 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 预热可增加产量。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增加产量。
