

Flying Shark<sup>®</sup> Plant RNA Kit (gDNA-Filter)  
(Polysaccharides&Polyphenolics-rich)

多糖多酚植物 RNA 提取试剂盒 (gDNA 清除柱)

目录号

RNE33 (50 preps)

试剂盒组成

Component	RNE33 (50 preps)
Buffer HL	45 ml
Buffer RD	25 ml
Buffer RW1	25 ml
Buffer RW2 (concentrate)	13 ml (使用前按瓶上标签加入无水乙醇)
RNase-free H <sub>2</sub> O	10 ml
gDNA-Filter Columns with Collection Tubes	50
Spin Columns RA with Collection Tubes	50
RNase-free Collection Tubes	50

保存方法

室温 (15-30°C) 保存。



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）中成功提取高质量 RNA，也适用于真菌、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。采用 **DNA 清除柱 (gDNA-Filter Columns) 套件去除残留的基因组 DNA**，高吸附硅基质膜 (Spin Columns RA) 对 RNA 进行吸附纯化，使得提取的总 RNA 纯度高，无 DNA、蛋白质和其它杂质的污染，可直接用于 Real Time RT-PCR、RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot 和体外翻译等多种下游实验。

## RNA 得率

植物叶片 (100 mg)	总 RNA 量 (μg)
小麦	~45
拟南芥	~40
棉花	~35

## 自备试剂

β-巯基乙醇、无水乙醇

## 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. Buffer HL 在使用前请加入 β-巯基乙醇至终浓度 2%，如 600 μl Buffer HL 加 12 μl β-巯基乙醇，最好现用现配。加入 β-巯基乙醇的 Buffer HL 室温可保存 1 个月。
5. 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。
6. gDNA-Filter Columns 可去除绝大部分 DNA 残留，若下游实验对痕量基因组残留敏感，可使用 DNase I 进一步清除 DNA 污染。
7. 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，并将研磨好的组织粉末迅速转入 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）。

**操作步骤**（以下所有离心步骤均在室温下进行）

1. 取 600  $\mu$ l Buffer HL（使用前请确认是否已加入  $\beta$ -巯基乙醇）至 1.5 ml 离心管中备用。
2. **匀浆处理**：50-100 mg 植物组织在液氮中迅速研磨成粉末，立即转入装有 Buffer HL 的离心管，剧烈振荡混匀，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 200 mg；对于富含淀粉的样本或成熟叶片，可适当增加 Buffer HL 的用量，最多可增加至 800  $\mu$ l。  
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 3 min，转移上清液至新的 RNase-free 离心管。
4. 加入 0.5 倍上清体积的无水乙醇，混匀（可能会出现絮状沉淀）。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 DNA 清除柱（gDNA-Filter Columns）中，若一次不能将全部溶液加入吸附柱中，请分两次转入。12,000 rpm 离心 1 min，弃废液。
5. gDNA-Filter 放入新的 RNase-free 收集管内（已提供），加入 500  $\mu$ l Buffer RD，12,000 rpm 离心 30 s，**收集滤液**（RNA 在滤液中）。
6. 向**滤液**中加入 0.5 倍体积无水乙醇（通常 250  $\mu$ l），吸打混匀，将混合物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。
7. 向吸附柱 RA 中加入 500  $\mu$ l Buffer RW1，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
8. 向吸附柱 RA 中加入 600  $\mu$ l Buffer RW2（使用前检查是否已加入无水乙醇!），12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
9. 重复步骤 8。
10. 将吸附柱 RA 放回空收集管，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 放入一个新的 1.5 ml RNase-free 离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 30-50  $\mu$ l RNase-Free H<sub>2</sub>O，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集 RNA 溶液，-70 $^{\circ}$ C 保存，防止降解。  
**注意**：RNase-Free H<sub>2</sub>O 体积不应少于 30  $\mu$ l，体积过小影响回收效率。如果要提高 RNA 的产量，可用 30-50  $\mu$ l 新的 RNase-Free H<sub>2</sub>O 重复步骤 11，如果要提高 RNA 浓度，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，重复步骤 11。

---

---