

版本号: FRI1606

FinePure Plant RNA Kit

(Polysaccharides&Polyphenolics-rich)

FinePure 多糖多酚植物 RNA 提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: FR302

产品内容:

Contents	FR302 (50 preps)
DNase I (2,000 U)	1 瓶
DNase I Buffer	4 ml
RNase Free ddH ₂ O (管装)	1 ml
RNase Free 注射器	1 支
Buffer RBL	30 ml
Buffer RLP	40 ml
Buffer RW	40 ml
Buffer RW2	12 ml
RNase Free ddH ₂ O (瓶装)	15 ml
RNAPure Spin Columns	50 个
FinePure Filtration Columns	50 个
2 ml Collection Tubes	2×50 个
1.5 ml RNase Free Microcentrifuge Tubes	50 个

储存条件:

本试剂盒中的 DNase I 组分采用冰袋运输, 收到后立即将 DNase I 置于 2-8°C 保存, 其他试剂室温(15-25°C)保存。加入 β-巯基乙醇的 Buffer RLP 4°C 可放置 1 个月。

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。

产品简介：

本试剂盒采用了独特的裂解系统，可以对各种简单的植物组织材料（叶片、茎、幼苗等），尤其是富含多糖多酚的植物组织材料（果实、种子等）、真菌等进行 RNA 的提取，适用范围广泛。使用本试剂盒可以有效提取分子量大于 200 nt 的 RNA。

本试剂盒具有高效、快速、方便的特点，提取过程中也无需苯酚氯仿抽提等步骤。利用该试剂盒提取的RNA纯度高，极少含蛋白质、基因组DNA 和其它杂质的污染。使用本试剂盒可以从 50~100 mg 植物组织中纯化得到多至几十微克的高纯度RNA。提取得到的RNA可以直接用于Northern 杂交、斑点杂交、mRNA 纯化、体外翻译、RNA 分解酶的保护分析、RT-PCR、Real Time RT-PCR、构建 cDNA 文库等各种分子生物学实验。

FR302已验证样本（多糖多酚类样本）：

果实样本：

红夏橙幼果、苹果原生质细胞、香蕉、西瓜、苹果、葡萄果肉及果皮、梨。

叶片样本：

棉花叶片、木薯叶片、东南景天叶片、葡萄叶片、甜瓜叶片、绿豆叶片、水稻叶片、大豆叶片、白松松针、大麦叶片、平邑甜茶、萼脊兰叶片、野生刺山柑叶片、牛樟叶、白花蛇舌草。

根/茎样本：油菜根、马铃薯、红薯、烟草茎、大麦根牛樟根、茎。

种子样本：棉花种胚、荞麦种子、红夏橙种子。

中草药样本：五味子（果实）。

真菌样本：香菇（真菌和固体培养基）、破囊壶菌、板栗疫病菌。

藻类样本：长茎葡萄蕨藻。

器官类样本：月季愈伤组织、草莓组培苗。

注意：有些植物组织（例如玉米的乳白色胚乳，红豆种子）或丝状真菌，由于次级代谢产物较特殊，异硫氰酸胍使样品产生沉淀，导致RNA提取效果不佳的现象，此时可以向GENFINE公司免费索取另一种 Buffer RLH，将解决该问题。

FR303已验证样本：

拟南芥叶片、水稻叶片、小麦叶片、玉米叶片、野生大豆叶片、烟草叶片、西红柿叶片、苹果叶片、草坪草狗牙根叶片、无患子幼嫩叶片、露草叶片、芍药种子、酵母等。

预防RNase污染，应注意以下几方面：

1. 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致RNase污染。
2. 使用无RNase的塑料制品和枪头避免交叉污染。
3. RNA在Buffer RLP中时不会被RNase降解，但提取后继续处理过程中应使用不含RNase的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在150°C烘烤4 h，塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10 min，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除RNase。
4. 配制溶液应使用RNase Free ddH₂O。（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC至终浓度0.1%(v/v)，混匀后放置过夜，高压灭菌。）

注意事项：

1. 操作前请先在 1 ml Buffer RLP 加入 50 μ l β -巯基乙醇，配好的 RLP 可在 4°C 放置 1 个月。Buffer RLP 在储存时可能会形成沉淀，如果有沉淀出现，请于 60°C 加热溶解，然后待恢复至室温后使用。
2. 尽可能使用新鲜收集的样品，RNA 产量与起始样品中 RNA 的完整性有关，按照说明书标准流程降解为小片段的 RNA 不能被有效回收。
3. 第一次使用前应在漂洗液 RW2 中加入无水乙醇，加入量请参见瓶上标签。
4. 如需提取包含 Small RNA (<200 nt)的 RNA, 可以联系 GENFINE 获得相应的提取流程。

DNase I 母液的配制：

先用 1 ml RNase Free 注射器吸取 550 μ l RNase Free ddH₂O，然后打进装有 DNase I 干粉（2,000 U）的玻璃瓶中，轻柔混匀，分装后-20°C贮存（可保存 9 个月）。(如果需要另外购买 DNase I，目录号：FA102)。

注意：从-20°C融化后的 DNase I 母液保存于 4°C（可保存 6 周），不要再次冻存。

操作步骤：

使用前请先在 Buffer RW2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 柱平衡步骤：向吸附柱 RNAPure Spin Columns 中（吸附柱放入收集管中）加入 500 μ l Buffer RBL，12,000 rpm 离心 2 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。（请使用当天处理过的柱子）
2. 匀浆处理：

将新鲜的或超低温冻存的植物组织样品迅速转移至用液氮预冷的研钵中,用研杵研磨组织,其间不断加入液氮,直至研磨成粉末状(无明显的可见颗粒,如果没有研磨彻底会影响 RNA 的收率和质量)。将研磨成粉末状的样品(50-100 mg)加入到含有 500 μ l Buffer RLP(使用前请先检查是否已加入 β -巯基乙醇)的 1.5 ml 灭菌离心管中,立即涡旋剧烈震荡混匀直至裂解液中无明显沉淀。

注意 1: 对于预期 RNA 得率小于 10 μ g 的植物样本,请使用 100 mg 的起始样本量;对于富含淀粉的样本或成熟叶片,请将 Buffer RLP 用量增加至 700 μ l。

注意 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。

- 12,000 rpm 离心 2 min。
- 将过滤柱 FinePure Filtration Column 放入收集管中,然后将上一步离心收集的上清液用移液器转移到过滤柱中,12,000 rpm 离心 2 min,小心吸取收集管中的滤液至新的 1.5 ml RNase-Free 离心管中,吸头尽量避免接触收集管中的细胞碎片沉淀。
- 缓慢加入 0.4 倍滤液体积的无水乙醇,混匀(此时可能会出现沉淀),将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱 RNAPure Spin Columns (吸附柱放在收集管中),12,000 rpm 离心 15 sec,倒掉收集管中的废液,将吸附柱放回收集管中。
- 向吸附柱中加入 350 μ l Buffer RW,12,000 rpm 离心 1 min,倒掉收集管中的废液,将吸附柱放回收集管中。
- DNase I 工作液的配制:取 10 μ l DNase I 母液放入新的 RNase Free 离心管中,加入 70 μ l DNase I Buffer,轻柔混匀。
- 向吸附柱中央加入 80 μ l 的 DNase I 工作液,室温放置 15 min。
- 向吸附柱中加入 350 μ l Buffer RW,12,000 rpm 离心 1 min,倒掉收集管中的废液,将吸附柱放回收集管中。
- 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer RW2 (使用前请先检查是否已加入乙醇),室温放置 2 min,12,000 rpm 离心 1 min,倒掉收集管中的废液,将吸附柱放回收集管中。
- 重复操作步骤 10 一次。
- 12,000 rpm 离心 3 min,将吸附柱放入一个新的 1.5 ml RNase Free 离心管中,室温放置 2 min,向吸附膜中央加入 50-100 μ l RNase Free ddH₂O,室温放置 1 min,12,000 rpm 离心 1 min,得到 RNA 溶液。