

多糖多酚植物RNA提取试剂盒（预分装）

（使用说明书 Ver.1.1.2）

产品特点

- ◇ 自动化操作流程约35分钟，快速纯化提取RNA，各类多糖多酚复杂植物样品如下：

种子类	水稻、小麦、玉米、紫珍葡萄、芦柑、苹果、向日葵、苜蓿、油菜籽等
叶片类	人参、石斛、海棠、棉花叶、苜蓿、大飞燕、槐树、芍药、绿萝、黑麦草、雏菊、日本晚樱、玫瑰叶片、野菊、党参、葛根、拟南芥叶片等
花类	石斛花、中华晚樱、日本晚樱、关山樱、玫瑰、雏菊、山桃花、绛桃、碧桃、胎菊、蜡菊、秋菊、墨菊、迎春花等
各类水果 (按统称)	草莓、山桃、西瓜、苹果、西红柿、葡萄、橘子、芦柑、库尔勒梨等
其它类	丹参根、石斛根、芍药根、蜡菊根、雏菊根、塔河白桦树皮、蒙归（满归）枫桦树皮、塔河黑桦树皮、日本落叶松茎干形成层、狗牙根等

- ◇ 获得的RNA产量高、纯度好，可直接用于酶切、PCR、芯片，高通量测序等分子生物学实验。
- ◇ 提取到约50 μ g总RNA。
- ◇ 此产品仅供科研使用。

产品货号：

TB226-32-kf（32次反应）

TB226-96-kf（96次反应）



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	1
操作步骤	2
FAQ常见问题及解决方法	5

产品组份

试剂盒组成	32次	96次	保存
裂解管 (选配) 具体详情提前咨询下简石技术人员	32个	-	室温
裂解板 (选配) 具体详情提前咨询下简石技术人员	-	1块	室温
植物RNA裂解液	25ml	75ml	室温
DNase I	250U	2*250U	-20°C
DNA消化液	3ml	5ml	室温
96孔提取板	2块	6块	室温

注：售出后一年内产品可质保。试剂已经过大量常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

注意事项

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
2. DNase I酶避免反复冻融，避免长期室温，避免密封问题，每只DNase I酶干粉250U用150 μ l无酶水溶解，建议DNase I与DNA消化液的混合体系按所需用量分装出来，4°C冰箱保存 \leq 6周。
3. 96孔预分装提取板，使用前轻轻甩动或吊篮式离心机瞬离，使内壁附着试剂、磁珠离心至管底。

产品特性

- ◇ 样品：可从100~200mg的各类多糖多酚复杂植物样品等提取到约50 μ g总RNA。
- ◇ RNA纯度：获得的RNA产量高、纯度好，可直接用于PCR、高通量测序等各种分子生物学实验。
- ◇ 操作时间：操作时间 \leq 50分钟。
- ◇ 操作温度：室温。

操作步骤:

以下为样本前处理步骤:

1. 直接添加**100~200mg**剪断的小块或粉碎的新鲜植物样本到植物裂解管\植物裂解板中, 迅速放入液氮中冷却。(上述样本上样量为理论值, 准确上样量视样本种类而定; 含有大量多糖、淀粉、纤维素、色素、有机酸等有机物质的复杂植物, 请联系简石生物技术有限公司研发人员索要复杂植物样本处理方案, 购买糖分还原剂)
2. 液氮冷冻后, 迅速放入适配的高频破碎仪中破碎研磨(可选用简石生物适配的“8字”或垂直高通量破碎仪), 破碎仪条件如下:
较坚硬, 难破碎的样本如: 小麦、水稻、玉米种子、植物根茎等多淀粉糖类植物。
匀浆条件: **6.5~7m/s (60~70hz), 45s/cycle, Hold 45s, 2cycle**
较新鲜, 水分较多糖分较多如: 新鲜叶片、各类果实如草莓、西瓜等
匀浆条件: **5m/s (40~50hz), 30~45s/cycle, 1cycle**
3. 破碎后将裂解管或裂解板每个管中加入~**750 μ l植物RNA裂解液**, 充分混匀震荡**5min**(可涡旋震荡), 然后将裂解管或裂解板高速离心**10min**, 裂解管最大离心力**x 20000g**, 裂解板最大离心力**x 5000g**。
4. 准备好**96孔提取板**, 使用前轻轻甩动或吊篮式离心机瞬离, 使内壁附着试剂、磁珠离心至管底。上述裂解管或裂解板中**300~500 μ l**上清转移至准备好的**96孔提取板**中: **32次规格**的**1,7列**; **96次规格**的**第1板**。
5. 准备干净的无酶离心管, 制备DNA消化体系, 每单次提取用量配比为: **50 μ l DNA消化液**加入**1 μ l DNase I** (酶的用量视样本所含基因组DNA量添加, 常规用量**1 μ l**, 不宜过多影响RNA核酸纯度。)

上述制备好的DNA消化体系加入96孔提取板中: **32次规格**的**2、8列**; **96次规格**的**第2板**。

以下为全自动提取提取步骤, 程序设置 (参考)

此程序针对**TB226 磁棒式自动提取仪**, 如简石生物技术有限公司 **BrightBOT - 16 - 32 - 96**。



TB226-32-kf提取板试剂分布

注：第1、7列为样品上清添加位置；2、8列为DNA消化体系添加位置。

	1、7列	2、8列	3、9列	4、10列	5、11列	6、12列
A	异丙醇300μl 磁珠15μl	RNA预洗液 600μl	RNA洗涤液 600μl	RNA洗涤液 600μl	无水乙醇 500μl	无酶水50μl
B						
C						
D						
E						
F						
G						
H						

程序设置：TB226-32-kf

裂解加热：关		裂解温度：-		裂解终止：-	
洗脱加热：关		洗脱温度：-		洗脱开始：-	
	步骤一	步骤二	步骤三	步骤四	
名称	裂解结合	洗涤1	洗涤2	洗涤3	
孔位	1	2	3	4	
等待时间	-	-	-	-	
混合时间	600s	200s	120s	120s	
磁吸时间	80s	80s	80s	80s	
容积	815μl	650μl	600μl	600μl	
速度	快	慢	快	快	

裂解加热：关		裂解温度：-		裂解终止：-	
洗脱加热：关		洗脱温度：-		洗脱开始：-	
	步骤五	步骤六	步骤七		
名称	洗涤4	洗脱	弃磁珠		
孔位	5	6	5		
等待时间	-	300s-	-		
混合时间	120s	300s	100s		
磁吸时间	80s	80s	-		
容积	500μl	50~100μl	500μl		
速度	快	快	快		

TB226-96-kf提取板试剂分布

注：第1板为样品上清添加位置；2板为DNA消化体系添加位置。

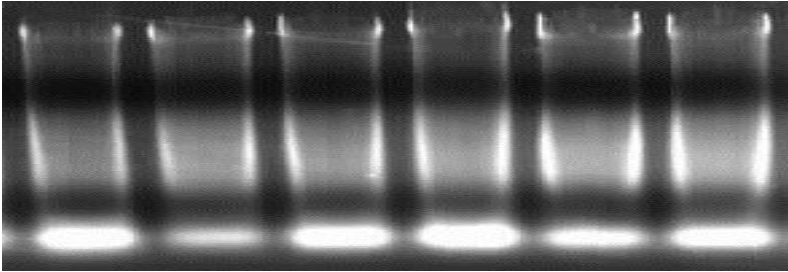
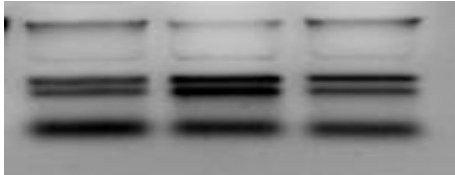
	1板	2板	3板	4板	5板	6板
A	异丙醇300μl 磁珠15μl	RNA预洗液 600μl	RNA洗涤液 600μl	RNA洗涤液 600μl	无水乙醇 500μl	无酶水50μl
B						
C						
D						
E						
F						
G						
H						

程序设置：TB226-96-kf

裂解加热：关		裂解温度：-		裂解开始：-	
洗脱加热：关		洗脱温度：-		洗脱开始：-	
	步骤一	步骤二	步骤三	步骤四	
名称	裂解结合	洗涤1	洗涤2	洗涤3	
板位	1	2	3	4	
等待时间	-	-	-	-	
混合时间	600s	200s	120s	120s	
磁吸时间	120s	100s	100s	100s	
容积	820μl	650μl	600μl	600μl	
速度	快	慢	快	快	

裂解加热：关		裂解温度：-		裂解开始：-	
洗脱加热：关		洗脱温度：-		洗脱开始：-	
	步骤五	步骤六	步骤七		
名称	洗涤4	洗脱	弃磁珠		
板位	5	6	5		
等待时间	-	300s-	-		
混合时间	120s	300s	120s		
磁吸时间	100s	120s	-		
容积	500μl	50~100μl	500μl		
速度	快	快	快		

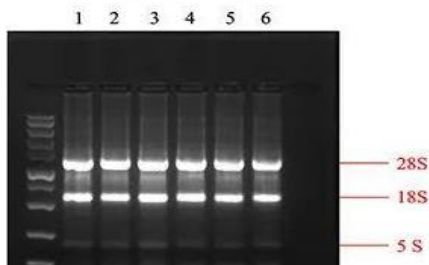
FAQ常见问题及解决方法

Q: 问题	A: 可能的原因和推荐的解决方案
RNA降解	<ol style="list-style-type: none">1. 内源性RNA酶或者环境当中存在RNA酶的污染，应在超净台中操作，避免试剂耗材被气溶胶中的酶污染。2. RNA或DNA提取，应在不同房间中操作，室内有负压系统，所有试剂避免RNA酶试剂接触。3. 匀浆条件应适当摸索，破碎要彻底，但是避免过于剧烈。4. 避免高温下操作。实验室条件应有高速冷冻离心机。5. 洗脱下来的RNA储存及时放入-80°C冰箱。6. 样本的新鲜程度至关重要，植物应取新鲜稚嫩叶片或者组织，脱离母体后应迅速液氮冷冻或者-80°C保存。7. 整个提取过程当中至少保证低温环境与处理，可选用低温干冰与液氮共同处理，避免反复冻融破碎破坏样本。  <p>上图存在降解现象，并伴随蛋白污染使得点样孔有亮带存在。</p>
RNA产量低	<ol style="list-style-type: none">1. 过于坚硬的样本如种子、根部等样本，在匀浆研磨之前，应手动简单破碎，提高高频研磨仪的破碎效率。2. 水分、液泡含量丰富的样本可以适当多取一些，这类样本RNA基础含量低。3. 复杂型多糖多淀粉类样本，不要太多上样量参与提取，淀粉吸水膨胀，非牛顿流体状态，液相过于粘稠，造成堵柱子情况、磁珠抱团黏附在一起会发生会降低核酸收集量。
DNA残留	<p>样本种类多种多样，DNA含量较高的样本，往往残留过多，只通过3号YIG柱不能完全收集并过滤掉DNA，磁珠法会富集到更多的DNA，可以选用选配组件DNase-I和消化液效果更佳。</p>  <p>如图DNA残留较明显，需要配合DNase I 消化</p>

A260/A230
过低

1. 消化时间过短，DNA污染，RNA未释放出来。
2. 有机物污染，饱和酚提取试剂去除不干净残留，样本当中蛋白含量过高或者胍盐去除不干净。
3. 样本本身含有大量有机物质，例如：葱醌类、生物碱、有机酸、果酸、腐殖酸、叶绿素、色素、鞣质物质、挥发油、杂蛋白、芳香烃等，去除不干净导致纯度不高，应配套纯化套装使用。
4. RNA未完全溶解，磁珠附着，磁珠洗涤效率不好。

植物总RNA提取



RNA
质量标准

样本	提取方法	产品货号	核算浓度 (ng/μl)	A260/A280	A260/A230	洗脱体积	电泳上样
植物 (100mg)	简石植物总RNA全系试剂盒	TR225-VS	242.9	1.91	2.01	50μl	5μl
		TB226	269.7	1.92	2.22		
		TR205	255.7	1.93	2.21		
植物 (100mg)	简石植物总RNA全系试剂盒	TR225-VS	272.9	1.99	2.11	50μl	5μl
		TB226	255.8	1.95	2.15		
		TR205	285.9	1.98	2.21		