

# 多糖多酚植物RNA提取试剂盒（磁珠法）

（使用说明书 Ver.1.1.3）

## 产品特点

- ◇ 操作流程约25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、紫珍珠葡萄、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50μg总RNA。
- ◇ 此产品仅供科研使用。

产品货号：

TB226-5（5次反应） TB226-50（50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
试剂制备	1
操作步骤	2
FAQ常见问题及解决方法	3
组件查询	5

## 产品组份

试剂盒组成	5次	50次	保存
裂解管 (2.0mm)	5个	50个	室温
植物RNA裂解液	1.6ml	16ml	室温
植物糖分还原剂	1.6ml	16ml	4°C
植物RNA结合液	10ml	50ml	室温
磁珠	200 $\mu$ l	2ml	室温
磁珠RNA预洗液	3ml	30ml	室温
磁珠RNA洗涤液	2ml	15ml	室温
无 DNase/RNase 水	1ml	5ml	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. 糖分还原剂应注意保存在4°C冰箱当中。

## 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 $\mu$ g总RNA。
- ◇ RNA纯度：获得的RNA产量高、纯度好，直接用于PCR、高通量测序等各种分子生物学实验。
- ◇ 操作时间：25分钟。
- ◇ 操作温度：室温 (15-30°C)。

## 试剂制备

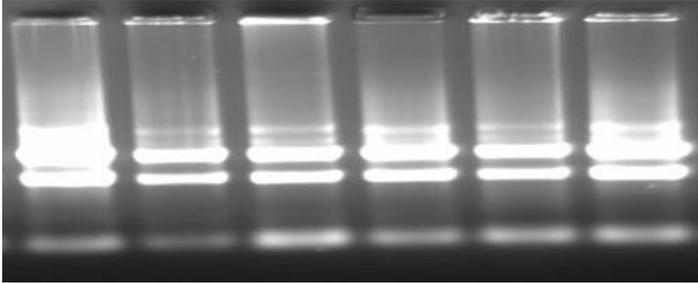
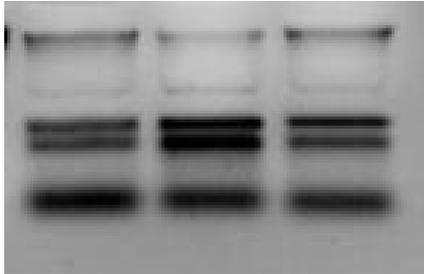
- ◇ 磁珠RNA洗涤液添加60ml无水乙醇到15ml的磁珠RNA洗涤液中并做好标记。

## 操作步骤:

### RNA纯化步骤:

1. 直接添加100~200mg新鲜的植物样品到植物裂解管中（上述样本上样量为理论值，准确上样量视样本而定），添加300 $\mu$ l的植物RNA裂解液与300 $\mu$ l植物糖分还原剂到裂解管中，充分混匀5min。（也可液氮干打的方式处理样本，打碎的粉末状样本再添加上述裂解液与还原剂充分混匀）
2. 使用高频振荡破碎仪条件如下：
  - ◇ 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：7m/s (70hz) , 45s\Cycle, Hold 2min, 2Cycles
  - ◇ 较新鲜，水分较多糖分较多如：新鲜叶片、各类果实草莓、西瓜等  
匀浆条件：6m/s (50~60hz) , 30s\Cycle, 1Cycle
3. **选做步骤**：如上述混合液相过于黏稠，金属浴加热消化55 $^{\circ}$ C，10~15min后将裂解管高速冷冻离心 $\geq$ 16000g，10min。
4. 将上述步骤中约~300 $\mu$ l上清取出后，转入一个无酶离心管当中，添加1倍体积的植物RNA结合液，充分振荡混匀，（本步骤视样本处理程度，多糖成分过多的样本加入2倍体积的植物RNA结合液即可，充分混匀，结合液有破坏细胞器、叶绿体等作用，避免加入异丙醇后，有更多的白色絮状物、纤维素多糖等次级代谢产物，影响磁珠洗涤效率。）。
5. 添加0.5倍异丙醇到管中充分混匀，添加20 $\mu$ l混匀的磁珠混悬液，充分混匀~15min（选配台式混样器）
6. 将上述混合液放到磁力架上面，静置1min，上下颠倒几次，洗下管壁上面的磁珠，待磁珠吸附，弃掉上清液。
7. 将离心管从磁力架上面取下来，添加500 $\mu$ l磁珠RNA预洗液，涡旋振荡1min，放回磁力架，弃掉上清液。
8. 将离心管从磁力架上面取下来，添加800 $\mu$ l磁珠RNA洗涤液，涡旋振荡1min，放回磁力架，弃掉上清液。
9. 将离心管从磁力架上面取下来，添加500 $\mu$ l无水乙醇，涡旋振荡1min，放回磁力架，弃掉上清液。
10. 重复步骤9。将离心管中残留上清液，用吸头小心的吸出，室温晾置5min~10min，去除残留乙醇。
11. 将离心管从磁力架上面取下来，在离心管中直接添加 $\geq$ 50 $\mu$ l的无DNase/RNase水，室温下充分混匀2-5分钟，放回磁力架，待磁珠完全吸附，检测浓度。

## FAQ常见问题及解决方法

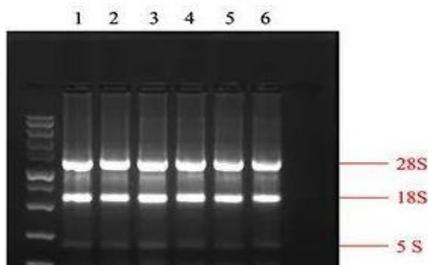
Q: 问题	A: 可能的原因和推荐的解决方案
RNA降解	<ol style="list-style-type: none"><li>1. 内源性RNA酶或者环境当中存在RNA酶的污染，应在超净台中操作，避免试剂耗材被气溶胶中的酶污染。</li><li>2. RNA或DNA提取，应在不同房间中操作，室内有负压系统，所有试剂避免RNA酶试剂接触。</li><li>3. 匀浆条件应当摸索，破碎要彻底，但是避免过于剧烈。</li><li>4. 避免高温下操作。实验室条件应有高速冷冻离心机。</li><li>5. 洗脱下来的RNA储存及时放入-80°C冰箱。</li><li>6. 样本的新鲜程度至关重要，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。</li><li>7. 整个提取过程当中保证低温环境处理，可选用低温干冰与液氮共同处理或者破碎样本，避免反复冻融破坏样本。</li></ol>  <p><b>上图存在蛋白污染使得点样孔有亮带存在。</b></p>
RNA产量低	<p>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。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。</p>
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，只通过单纯的3号YIG纯化柱不能完全收集DNA，可以选用选配组件DNase I和消化液效果更佳。</p>  <p><b>如图DNA残留较明显，需要配合DNase I 消化</b></p>

A260/A230  
过低

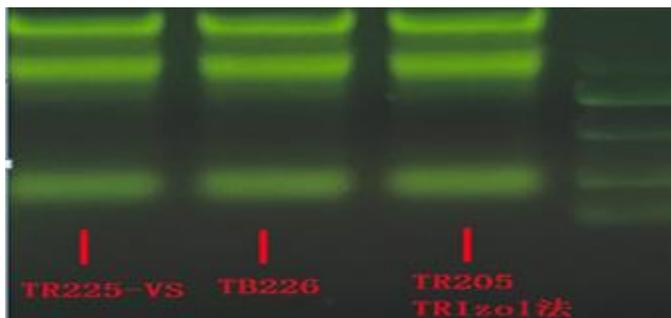
1. 消化时间过短，DNA污染，RNA未释放出来。
2. 有机物污染，饱和酚提取试剂去除不干净残留，样本当中蛋白含量过高或者胍盐去除不干净
3. 样本本身含有大量有机物质，例如：葱醌类、生物碱、有机酸、果酸、腐殖酸、叶绿素、色素、鞣质物质、挥发油、杂蛋白、芳香烃等，去除不干净导致纯度不高，应配套纯化套装使用。
4. RNA未完全溶解，磁珠附着。

RNA  
质量标准

### 植物总RNA提取



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
黄瓜 (15mg)	简石植物总RNA全系试剂盒	TR225-VS	242.9	1.91	2.01	50μl	25μl
		TB226	269.7	1.92	2.22		
		TR205	255.7	1.93	2.21		



## 组件查询

组件名称	货号	规格	储存条件
裂解管 (2.0mm)	TS6003-5	5个	室温
	TS6003-50	50个	
植物RNA裂解液	TR2205-1-1.6	1.6ml	室温
	TR2205-1-16	16ml	
植物糖分还原剂	TR2205-3-1.6	1.6ml	4°C
	TR2205-3-16	16ml	
植物RNA结合液	TR2205-2-10	10ml	室温
	TR2205-2-50	50ml	
磁珠	TD4100-2-0.2	200 $\mu$ l	室温
	TD4100-2-2	2ml	
磁珠RNA预洗液	TR2206-2-3	3ml	室温
	TR2206-2-30	30ml	
磁珠RNA洗涤液	TR2206-3-2	2ml	室温
	TR2206-3-15	15ml	
无 DNase/RNase 水	TW1001-1	1ml	室温
	TW1001-5	5ml	