

SteadyPure植物RNA快速提取试剂盒

SteadyPure Plant RNA Quick Extraction Kit

Code No. AG21040

包装量: 50 rxns
保存温度: 室温(15~30°C)

➤ 产品概述

本产品可从小于 100 mg 的多种植物组织材料（包括简单植物或复杂植物的根、茎、叶、花、果实、种子等）中快速提取获得 RNA。试剂盒采用独特的裂解系统，无需有毒的酚氯仿抽提，能在迅速裂解组织的同时抑制细胞释放出的核酸酶，保持 RNA 的完整性，同时配有 gDNA Eraser Mini Columns 能有效去除杂质和基因组 DNA，Quick Plant RNA Mini Columns 能高效结合 RNA，样本匀浆后提取过程只需 10 分钟。使用本产品获得的 RNA 纯度高，蛋白质、基因组 DNA 和其他杂质的污染少，可以直接用于 RT-PCR、Real Time RT-PCR、RNA 建库、Northern 杂交、体外翻译、分子克隆、芯片分析等各种分子生物学实验。

➤ 安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请穿戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

【注意：实验过程中产生的废液需要收集在废液桶中专门处理。】

如果缓冲液 Buffer QPLS、Buffer QWA 不小心溅出，请立刻用大量清水冲洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

➤ 产品组成

Buffer QPLS	30 ml
Buffer QWA	30 ml
Buffer QWB ^{*1}	30 ml
RNase Free Water ^{*2}	10 ml
gDNA Eraser Mini Columns	50 sets
Quick Plant RNA Mini Columns	50 sets
Collection tubes	50 pcs
RNase Free Tubes ^{*3}	50 pcs

*1. Buffer QWB 在首次使用前，请添加 70 ml 的无水乙醇（Buffer QWB 与无水乙醇体积比为 3 : 7），混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

*2. RNase Free Water 开启后建议保存于 -20°C。

*3. 此组分仅用于洗脱 RNA，前期裂解所用离心管需自备。

➤ 实验前准备

1. 自备：无水乙醇、1.5 ml 离心管（RNase free）。
2. Buffer QPLS 若出现沉淀，请于 60°C 加热溶解，待溶液恢复至室温后摇匀使用。
3. Buffer QWB 在首次使用前，请添加 70 ml 的无水乙醇（Buffer QWB 与无水乙醇体积比为 3 : 7），混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

➤ 保存及运输

保存温度：室温（15~30°C）保存

运输温度：室温运输

► 注意事项

1. 应尽量使用新鲜的实验材料，以确保提取的 RNA 不被降解。
2. 使用液氮研磨组织材料时，应随时加入液氮，以确保提取的 RNA 不被降解。
3. 一般情况下，植物组织材料的起始量可在 20 mg~100 mg，切勿超过最大起始量，且要充分裂解，否则会堵塞 Mini Column，影响 RNA 收量及纯度。
4. 本产品中的 gDNA Eraser Mini Columns 能有效去除 gDNA，但如果需要彻底消化 gDNA，可选择本公司产品【DNase I (RNase Free) Code No. AG12001】进行 gDNA 消化。
5. *Quick Plant* RNA Mini Column 的最大加样体积为 750 μ l，使用时如果液体的体积超出最大加样体积，请使用多个 *Quick Plant* RNA Mini Columns 进行纯化；或分次加入：上样 750 μ l 混合液后，离心，弃滤液，然后将剩余混合液再次上样，重复此步骤。
6. 操作过程中，*Quick Plant* RNA Mini Columns 的吸附柱需垂直从 Collection tube 或 1.5 ml 的离心管中取出（或放入），避免吸附柱柱头触碰管壁，造成污染。
7. 操作过程中，应预防 RNase 污染，需注意以下几方面：
 - a) 使用 RNA 操作专用实验台，经常更换新手套，穿戴 RNA 专用实验服，实验过程中尽量不要说话及来回走动，操作过程中避免物品从离心管上方过。
 - b) 严防操作环境、使用的容器、耗材和试剂的 RNase 污染。

► 操作流程

裂解步骤：

1. 将适量新鲜或 -80°C 冻存的植物组织样品转移至液氮预冷的研钵中，用研钵研磨植物组织（研磨过程中需要不断向研钵中补加液氮），直至研磨成粉末状（无明显可见颗粒，研磨不充分会影响样本的收量）。



样本的裂解处理

【注①：一般情况下，植物组织材料的起始量可在 20 mg~100 mg，后续可根据实验结果调整样本起始量；】

②：也可使用组织研磨仪进行研磨。将适量新鲜或 -80°C 冻存的植物组织样品转移至含有 600 μ l Buffer QPLS 的研磨管中，参考组织研磨仪的使用方法进行研磨，植物样品研磨后直接进行<裂解步骤 3>。】

2. 将已研磨成粉末状的样本转移至含有 600 μ l Buffer QPLS 的 1.5 ml 离心管（RNase free）中，立即高速涡旋振荡 1 min，使样本充分裂解混匀。

【注：针对难以裂解的植物组织样本，可高速涡旋振荡至 5 min，提高 RNA 收量。】

3. 12,000 rpm 室温离心 2 min，立即进行后续纯化步骤。

纯化步骤：

1. 小心吸取上清液并转移至 gDNA Eraser Mini Column 中，12,000 rpm 室温离心 1 min。

【注①：下层沉淀中含有植物残渣，转移上清液时应避免取到下层沉淀，否则会影响 RNA 的纯度；】

②：在不触碰到沉淀的前提下应尽可能多的吸取上清液，以获得更高的 RNA 收量。】

2. 弃 gDNA Eraser Mini Column 吸附柱，准确量取滤液的体积，转移至新的 1.5 ml 离心管（RNase free）中。
3. 向上述滤液中加入 0.5 倍滤液体积的无水乙醇，用移液枪充分吹打混匀，若出现明显粘稠物或沉淀，用移液枪吹打多次，打散沉淀。
4. 立即将上述混合液转移至 *Quick Plant* RNA Mini Column 中，12,000 rpm 室温离心 30 sec，弃滤液。
5. 向上述 *Quick Plant* RNA Mini Column 中加入 500 μ l 的 Buffer QWA，12,000 rpm 室温离心 30 sec，弃滤液。
6. 向上述 *Quick Plant* RNA Mini Column 中加入 700 μ l 的 Buffer QWB，12,000 rpm 室温离心 30 sec，弃滤液。

【注：请确认 Buffer QWB 中已经加入了指定体积的无水乙醇。】

7. 如果需要彻底消化 gDNA，请按下述<可选步骤>进行；如果无需消化 gDNA，请直接进行<纯化步骤 8>。
8. 再次向上述 *Quick Plant* RNA Mini Column 中加入 700 μ l 的 Buffer QWB，12,000 rpm 室温离心 30 sec，弃滤液。
9. 将上述 *Quick Plant* RNA Mini Column 的吸附柱安置于新的 2.0 ml Collection Tube 上，12,000 rpm 室温离心 2 min。



gDNA Eraser Mini Column
去除 gDNA



Quick Plant RNA Mini Column
吸附 RNA



500 μ l Buffer QWA 洗 1 次
700 μ l Buffer QWB 洗 2 次
空管离心

10. 将上述 *Quick Plant* RNA Mini Column 的吸附柱安置于新的 RNase Free Tube 上，在吸附柱膜的中央处加入 50 μ l~200 μ l RNase Free Water，然后 12,000 rpm 室温离心 2 min 洗脱 RNA，获得的 RNA 溶液可直接用于后续检测或置于 -80°C 保存。



50 μ l~200 μ l
RNase Free Water 洗脱

【注①：将 RNase Free Water 加热至 50 ~ 65°C 使用时有利于提高洗脱效率；如果想要获得更大收量的 RNA，可以将<纯化步骤 10>中的洗脱液再次转移至 *Quick Plant* RNA Mini Column 中进行二次洗脱。

②：RNase Free Water 的添加量可根据实际需求的 RNA 浓度调整，若需求较高浓度的 RNA，可适当降低 RNase Free Water 的添加量（例：30 ~ 50 μ l）。】

可选步骤：DNase I 消化：

1. 按下表配制 DNase I 反应液并混匀。把 50 μ l DNase I 反应液加到 *Quick Plant* RNA Mini Column 的膜中央，室温静置 15 分钟。

成分	用量
DNase I (RNase free)	4 μ l
10X DNase I Buffer	5 μ l
RNase free water	41 μ l

2. 向上述 *Quick Plant* RNA Mini Column 膜中央加入 350 μ l Buffer QWB，12,000 rpm 室温离心 30 sec 分钟，弃滤液。
3. 后续实验请按照上述纯化步骤 8-10 操作。

