

---

## 准备试剂

$\beta$ -巯基乙醇, 液氮, 研钵, 无RNase离心管, 5 M NaCl, 氯仿, 异丙醇, 75%乙醇, 无RNase水。

## 样品处理

1. 准备新鲜植物组织, 在液氮中研磨成粉状, 如果是干种子, 可在室温研磨。
2. 处理过的植物材料应一直保持置于-70°C冷冻保存, 直至加入提取试剂并悬浮。
3. 先将无RNase离心管置于干冰中再放入研磨好的冷冻的组织样品。

**注意事项** 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

使用前请按照1: 4的体积比将 $\beta$ -巯基乙醇与RNAplant Plus reagent混合。

## 小规模提取操作步骤: (样品<0.1 g, 使用小规模提取方法)

1. 取不多于0.1 g冷冻的研磨过的植物组织, 加0.5 ml提取试剂(4°C), 振荡至彻底混匀。
2. 室温放置5 min。注意: 平放离心管, 使表面积最大。
3. 4°C 12,000 rpm离心1 min, 上清转入新的无RNase离心管。
4. 加入0.1 ml 5 M NaCl, 温和混匀。
5. 加入0.3 ml 氯仿, 上下颠倒混匀。
6. 4°C 12,000 rpm离心10 min, 取上层水相转入新的无RNase离心管。

**注意: 若提取富含多酚或淀粉的植物组织, 可重复步骤5、6一次**

7. 加与所得水相等体积的异丙醇, 混匀, 室温放置10 min。
8. 4°C 12,000 rpm离心10 min。弃掉上清, 注意不要倒出沉淀。加1 ml 75%乙醇。(沉淀可能很难看见, 应小心操作。)
9. 4°C 5,000 rpm离心3 min。倒出液体, 注意不要倒出沉淀。剩余的少量液体短暂离心, 然后用枪头吸出, 室温晾干2-3 min。
10. 加50  $\mu$ l无RNase水, 反复吹打、混匀, 充分溶解RNA。如有絮状物, 可在室温条件下12,000 rpm离心1 min, 取上清转入干净的无RNase离心管中, -70°C保存。

---

## 大量提取操作步骤 (样品>0.1 g到5 g, 使用大量提取方法):

1. 每1 g冷冻的研磨过的植物组织, 加5 ml试剂, 振荡至彻底混匀。
2. 室温放置5 min。注意: 平放离心管, 使表面积最大。
3. 4°C 10,000 rpm离心1 min, 上清转入新的无RNase离心管。
4. 每10 ml上清加2 ml 5 M NaCl, 混匀。
5. 每10 ml上清加6 ml 氯仿, 上下颠倒混匀。
6. 4°C 10,000 rpm离心15 min, 取上层水相转入新的无RNase离心管。  
**注意: 若提取富含多酚或淀粉的植物组织, 可重复步骤5、6一次**
7. 测量所得水相体积, 加0.9倍体积异丙醇, 混匀, 室温放置10 min。
8. 4°C 10,000 rpm离心15 min。弃掉上清, 注意不要倒出沉淀。加5-10 ml 75%乙醇。
9. 4°C 5,000 rpm离心5 min。小心倒出液体, 注意不要倒出沉淀。剩余的少量液体短暂离心, 然后用枪头吸出, 室温晾干3-5 min。
10. 加无RNase水, 反复吹打、混匀, 充分溶解RNA(例如, 每1 g叶片可用200  $\mu$ l左右无RNase水溶解)。如有絮状物, 可将RNA溶液转移至1.5 ml无RNase离心管中室温12,000 rpm离心1 min, 取上清转入干净的无RNase离心管中, -70°C保存。

## 常见问题及解决办法

问题	原因	解决方法
RNA得率低	A. 样品研磨不充分 B. 样品未与试剂充分混合 C. 样品RNA含量少	A. 将样品充分研磨成粉末 B. 充分振荡, 彻底混合样品 C. 每ml提取液加1 $\mu$ l glycogen (20 $\mu$ g/ $\mu$ l) 有助RNA沉淀
RNA降解	A. 样品储存方法不当 B. 加入试剂前样品已解冻	A. 样品收集后或需长期保存时应置于-70 $^{\circ}$ C B. 样品应一直保持-70 $^{\circ}$ C直至加入试剂并悬浮
$A_{260}/A_{280}$ 比率低	A. RNA溶于水	A. 将RNA溶于10 mM Tris-HCl (pH7.5)进行紫外检测
废弃物有异味	A. 本试剂中含 $\beta$ -巯基乙醇	A. 废弃物用水稀释, 加几毫升3%双氧水, 过夜, 用碳酸氢钠调pH降低酸性

## 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. 使用灭过菌的塑料制品和枪头避免交叉污染。
3. RNA在RNAplant Plus提取试剂中时不会被RNase污染。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 $^{\circ}$ C烘烤4h, 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。

## RNAplant Plus Reagent

## RNAplant Plus植物总RNA提取试剂

目录号: DP437

### 产品内容

目录号	产品组成
DP437-01	16 ml
DP437-02	80 ml

### 产品简介

RNAplant Plus试剂可从植物组织, 特别是富含多酚或淀粉的植物组织 (如马铃薯块茎, 白松松针, 吊兰叶片, 山药, 香蕉, 苹果, 木瓜, 梨等) 中提取高纯度的总RNA。

每100 ml (加入 $\beta$ -巯基乙醇后的终体积) 可处理100 mg组织200次, 处理5 g组织4次。

### 储存条件

室温(15-25 $^{\circ}$ C)运输并保存, 添加 $\beta$ -巯基乙醇之后4 $^{\circ}$ C保存, 保存6个月。