

YALEPIC[®] 植物总 RNA 提取试剂盒 (不含 DNase I) YALEPIC[®] Plant Total RNA Isolation Kit (No DNase I)

产品货号: YR23007

产品保存及运输条件:

常温运输; 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC[®] Plant Total RNA Isolation Kit (No DNase I) 适用于从多种常规植物组织中快速提取高质量总 RNA。也适用于真菌菌丝 RNA 的提取。本试剂盒采用独特的裂解液配方, 无需苯酚/氯仿等试剂, 同时采用硅基质膜吸附 RNA, 搭配优化后的 Buffer 进行纯化, 提取的总 RNA 纯度高, 使多聚糖等各种污染物通过洗涤被有效去除, 无基因组、蛋白质和其它杂质的污染, 可用于 RT-PCR、荧光定量 PCR、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、Ploy(A)筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆等多种下游实验。

产品组分

序号	产品组分	YR23007 (50 T)
①	YL Buffer	37 ml
②	PRC Buffer	37 ml
③	Wash Buffer A	42 ml
④	Wash Buffer B (concentrate)	12 ml
⑤	RNase-free ddH ₂ O	11 ml
⑥	Pure Columns RT with Collection Tubes	50 T
⑦	Nuclease-free Centrifuge Tubes (1.5 ml) 赠	50 T

适用范围

50 ~ 100 mg 植物样本, 如松针、小麦叶片等。

10 ~ 20 mg 种子样本, 如红豆种子、小麦种子等。

自备试剂及仪器

无水乙醇（新开封或提取 RNA 专用）；70% 乙醇（RNase-free ddH₂O 配制）；β-巯基乙醇；Nuclease-free 离心管；Nuclease-free 移液器吸头；高速离心机；恒温水浴锅；涡旋振荡仪等。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施，穿戴实验服、手套、口罩等，与常规 RNA 实验操作环境一致。
2. 使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品，配制溶液应使用 **RNase-free ddH₂O**，试剂使用完后立即盖好瓶盖，避免交叉污染的风险。
3. 使用前请检查 **YL Buffer** 和 **PRC Buffer** 中是否有晶体析出，如有晶体析出，可放置 56°C 水浴锅使晶体溶解，混匀后放置室温使用。
4. **根据下表，确定是否需要添加β巯基乙醇。** **YL Buffer** 在使用前请加入β-巯基乙醇，至终浓度为 1%。如 1 ml **YL Buffer** 加 10 μl β-巯基乙醇。加入β-巯基乙醇的 **YL Buffer** 室温可保存 1 个月。

注：

普通植物，例如农作物（南瓜、辣椒、玉米叶、菜叶等）叶片、花	无需添加β巯基乙醇
多糖多酚类，例如桑叶、银杏、松针、月季等；植物果实类提取（苹果、樱桃、李子等）、树木类（尤其针叶类、云杉），含原花色素类植物	需添加β巯基乙醇

5. 首次使用前，向 **Wash Buffer B (concentrate)** 中加入瓶标签指定体积的无水乙醇。
6. 提取样本应避免反复冻融，液氮研磨时，为防止样本融化，需及时补给液氮，否则影响 RNA 提取得率和质量。
7. 本试剂盒可去除体系中 95% 的 DNA 污染，纯化获得的 RNA 通常无需使用 DNase I 处理即可用于下游实验操作。如果下游实验对微量 DNA 十分敏感，建议选用 RNase-free 的 **DNase I (YALI#YX27002)** 进行处理，进一步清除 DNA 污染。

实验流程

1. 取 50 ~ 100 mg 植物组织在液氮中迅速研磨成粉末，加入 600 μl **YL Buffer**（使用前请先检查是否加入β-巯基乙醇），立即涡旋剧烈振荡混匀。

注：1) 有些植物组织，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，此时可加入 PRC Buffer 替代 YL Buffer。2) 56°C 孵育 1 ~ 3 min 有助于组织的裂解，但是淀粉含量高的植物请勿进行高温孵育。

2. 4°C 12,000 rpm 离心 2 min。
3. 将上清液转入转移至新的 RNase-free 离心管（自备）中，枪头尽量避免接触管中的细胞碎片沉淀。

4. 缓慢加入 0.5 倍上清体积的无水乙醇, 颠倒混匀 (此时可能会出现沉淀), 将得到的溶液和沉淀一起转入已装入收集管的吸附柱 (**Pure Columns RT with Collection Tubes**) 中, 若一次不能将全部溶液加入吸附柱中, 可分多次转入。4°C 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
5. 向吸附柱中加入 700 µl **Wash Buffer A**, 4°C 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液, 将吸附柱重新放回收集管中。 (如下游实验对微量 DNA 敏感, 则建议用以下步骤替代步骤 5, 彻底去除微量 DNA)
 - *1) 向吸附柱中加入 350 µl **Wash Buffer A**, 4°C 12,000 rpm 离心 15 s, 弃废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
 - *2) 配制 DNase I ([YALI#YX27002](#)) 混合液: 取 52 µl **RNase-free ddH₂O**, 向其中加入 20 µl DNase I (1 U/µl) 及 8 µl 10×Reaction Buffer, 混匀配制成终体积为 80 µl 的反应液。如应用其他公司产品请参考相应说明书。
 - *3) 向吸附柱中加入 80 µl 配制好的 DNase I 反应液, 20 ~ 30°C 孵育 15 min。
 - *4) 向吸附柱中加入 350 µl **Wash Buffer A**, 4°C 12,000 rpm 离心 15 s, 弃废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入 500 µl **Wash Buffer B** (使用前检查是否加入无水乙醇), 4°C 12,000 rpm 离心 15 s, 弃废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
7. 重复步骤 6。
8. 4°C 12,000 rpm 离心 2 min, 弃去收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟, 以彻底晾干。
(注: 乙醇残留会影响后续的酶促反应, 应将吸附柱中残余的乙醇彻底去除)
9. 将吸附柱置于一个新的 **Nuclease-free Centrifuge Tubes (1.5 ml)** 中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 30~50 µl **RNase-free ddH₂O**, 室温放置 2 min, 4°C 12,000 rpm 离心 1 min, 得到的 RNA 溶液保存在 -85 ~ -65°C, 防止降解。

注:

- 1) RNase-free ddH₂O 体积不应小于 30 µl, 体积过小影响回收率。
- 2) 如需提高 RNA 产量, 可用新的 30 ~ 50µl RNase-Free H₂O 滴加至膜中重复步骤 9。
- 3) 如果要提高 RNA 浓度, 可将得到的溶液重新加入到吸附柱中, 重复步骤 9。

常见问题与解决方案

常见问题	原因	解决方案
Pure Columns 堵塞	1. 样本投入量过多	减少样本起始投入量。
	2. 样本研磨不充分	尽可能研磨充分，必要时可加大裂解液的体积及延长离心时间，取上清时，切勿吸到沉淀。
RNA 降解	1. 样本保存不当	采用新鲜样本或经过液氮速冻后保存于 -85 ~ -65°C 的样本。冻存样本应尽量避免反复冻融。
	2. 设备及环境污染	电泳前将电泳槽用 3% 双氧水浸泡 20 min，然后用 RNase-free ddH ₂ O 进行冲洗及电泳缓冲液的配制确保 RNase-free 的提取环境。确保提取过程中使用的枪头和离心管均为 RNase-free。
RNA 产量低	1. 样本量过少	样本起始投入量建议按照说明书进行操作。
	2. 样本保存不当	RNA 降解，采用新鲜或 -85 ~ -65°C 未冻融的样本。
	3. 研磨或匀浆不充分	液氮研磨时，确保研磨充分，并迅速转移至预先准备好的裂解液中。
	4. 洗脱不当	RNase-free ddH ₂ O 加至膜中央，适当减少洗脱体积，可 56°C 预热、延长室温放置时间或者进行二次洗脱。
抑制下游或纯度低	1. 盐离子残留	Wash Buffer B 洗脱两次，加液时沿吸附柱管壁四周加入盖盖后颠倒混匀 2 ~ 3 次，完全冲洗沾附于管壁上的盐离子。
	2. 乙醇残留	延长步骤 8 晾干放置时间，至乙醇完全挥发。
gDNA 污染	1. 样本量过高	减少样本起始投入量。若需进一步去除 gDNA 残留，可使用 DNase I 进行消化。

本产品仅供研究使用，请勿用于临床诊断。