

YALEPIC[®] 植物总 RNA 快速提取试剂盒 (PLUS)

YALEPIC[®] Plant Total RNA Fast Isolation Kit (PLUS)

产品货号: YR23016 (50T) ; (试) YR23016 (5T)

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 Fast RNA Isolation Kit (PLUS) 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, 提取过程中无需使用酚氯仿、 β -巯基乙醇等有毒试剂, 同时采用硅基质膜吸附 RNA, 搭配优化后的缓冲液进行纯化, Fast gDNA Filter Columns 能有效地去除杂质和 gDNA, Pure Columns RT 能高效地结合 RNA。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	YR23016	(试) YR23016
①	YLA Buffer	35 ml	4 ml
②	YLB Buffer	35 ml	4 ml
③	Wash Buffer RA	42 ml	4 ml
④	Wash Buffer RB	60 ml	6 ml
⑤	IP Buffer	25 ml	3 ml
⑥	RNase-free ddH ₂ O	11 ml	0.6 ml
⑦	Proteinase K	550 μ l	50 μ l
⑧	Fast gDNA Filter Columns with Collection Tubes	50 T	5 T
⑨	Pure Columns RT with Collection Tubes	50 T	5 T
⑩	Nuclease-free Centrifuge Tubes (1.5 ml) 赠	50 T	5 T

适用范围

叶片: 50 ~ 100 mg; 多糖块茎、块根、种子: 20 ~ 50 mg;

水果果肉: 100 ~ 200 mg; 真菌: 20 ~ 100 mg。

自备试剂及仪器

液氮；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 **YLA Buffer** 和 **YLB 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。

根据下表，选择使用 YLA Buffer 或 YLB Buffer

普通植物，例如农作物（南瓜、辣椒、玉米叶、菜叶等）叶片、花	YLA Buffer
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），含原花色类植物；真菌	YLB Buffer

4. **Wash Buffer RA** 和 **Wash Buffer RB** 中含无水乙醇，使用后请立即拧紧瓶盖，防止乙醇挥发。
5. 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。
6. 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 μ l **YLA Buffer** 或 **YLB Buffer**，再加入 10 μ l **Proteinase K**，立即涡旋剧烈振荡混匀，12,000 rpm 离心 5 min。
2. 将上清液转入转移至已装入收集管的吸附柱 (**Fast gDNA Filter Columns with Collection Tubes**) 中，12,000 rpm 离心 30 s，弃掉 Fast gDNA Filter Columns，收集滤液。(注: Fast gDNA Filter Columns 对杂质有较好过滤作用，吸取少量样本碎片不会影响后续实验)
3. 向收集管中缓慢加入 0.7 倍滤液体积的 **IP Buffer**，颠倒混匀 15 s (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。12,000 rpm 离心 30 s，弃废液，将吸附柱重新放回收集管中。
4. 向吸附柱中加入 700 μ l **Wash Buffer RA**，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液，将吸附柱重新放回收集管中。
5. 向吸附柱中加入 500 μ l **Wash Buffer RB**，12,000 rpm 离心 15 s，弃废液，将吸附柱重新放回收集管中。
6. 重复步骤 5。
7. 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)

8. 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 ~ 100 μl **RNase-free ddH₂O**, 室温放置 1 min, 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 ~ 100 μl RNase-free H₂O 滴加至膜中重复步骤 8。
- 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 8。

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 Nuclease-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 RB 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 7 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。