



**北京博凌科为生物科技有限公司**

Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.

Tel: 010-57158602/52872342/80773165 (Fax)

[Http://www.blkwbio.com/](http://www.blkwbio.com/)

E-mail: [blkwbio@blkwbio.com](mailto:blkwbio@blkwbio.com)

- ◆ **Simple PLANT 植物RNA提取试剂**
- ◆ **目录号 1112**
- ◆ **使用手册**
- ◆ **实验室使用，仅用于体外**

---

目录号: 1112

目录编号	包装单位
111201	20ml
111202	100ml

❖ **适用范围:**

适用于富含多糖、多酚植物总 RNA 抽提

❖ **产品储存:**

室温运输, 4°C 保存, 可保存 6 个月

❖ **产品介绍:**

Simple PLANT 试剂可从植物组织, 特别是富含多酚或淀粉的植物组织中, (如马铃薯块茎, 白松松针或嫩苗, 和西红柿叶等), 提取高纯度的总 RNA。每 100 ml 可处理 100 mg 组织 200 次, 处理 5 g 组织 4 次。

❖ **操作方法:**

**准备试剂:** 液氮, 研钵, 无 RNase 离心管, 5M NaCl, 氯仿, 异丙醇, 75%乙醇, 无 RNase 水。

**样品处理:**

- 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。
- 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。
- 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。

---

1. **小规模提取操作步骤:** (样品<0.1g, 使用小规模提取方法):

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

**如果提取富含多糖多酚的植物, 可以加入 0.3ml 氯仿再抽提一遍。**

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

2. **大量提取操作步骤** (样品>0.1g 到 5g, 使用大量提取方法):

- 1) 每 1 克冷冻的研磨过的植物组织, 加 5ml 试剂, 振荡至彻底混匀。
- 2) 室温放置 5 分钟。注意: 平放离心管, 使表面积最大。
- 3) 4℃ 10, 000 rpm 离心 1 分钟, 上清转入新的无 RNase 离心管。每 10ml 上清加 2ml 5M NaCl, 混匀。
- 4) 每 10ml 上清加 6ml 氯仿, 上下颠倒混匀。
- 5) 4℃ 10, 000 rpm 离心 15 分钟, 取上层水相转入新的无 RNase 离心管。

**如果提取富含多糖多酚的植物, 可以加入 6ml 氯仿再抽提一遍。**

- 6) 测量所得水相体积，加 0.9 倍体积异丙醇，混匀，室温放置 10 分钟。
- 7) 4℃ 10, 000 rpm 离心 15 分钟。弃掉上清，注意不要倒出沉淀。加 5—10ml 75% 乙醇。
- 8) 4℃ 5, 000 rpm 离心 5 分钟。小心倒出液体，注意不要倒出沉淀。剩余的少量液体可再次离心收集，然后用枪头吸出弃掉，室温晾干 3-5 分钟。
- 9) 根据沉淀大小加无 RNase 水，反复吹打混匀充分溶解 RNA(如每 1g 叶片可加 200 $\mu$ l 水)。如有絮状物，可室温 12, 000 rpm 离心 1 分钟，取上清转入干净的无 RNase 离心管中，-70℃ 保存。

#### ❖ 问题与解决方法

问题	评论与建议
RNA 得率低	<p>*样品研磨不充分-<b>建议</b>：将样品充分研磨成粉末。</p> <p>*样品未与试剂充分混合-<b>建议</b>：充分振荡，彻底混合样品</p> <p>*样品 RNA 含量少-<b>建议</b>：每 ml 提取液加 1<math>\mu</math>l glycogen (20<math>\mu</math>g/<math>\mu</math>l) 有助 RNA 沉淀</p> <p>*尼龙膜堵塞-<b>建议</b>：可使用纱布过滤</p>
RNA 降解	<p>*样品储存方法不当-<b>建议</b>：样品收集后或需长期保存时应置于-70℃</p> <p>*加入试剂前样品已解冻-<b>建议</b>：样品应一直保持-70℃直至加入试剂并悬浮</p>
A260/A280 比率低	<p>* RNA 溶于水-<b>建议</b>：将 RNA 溶于 10mM Tris-HCl(pH7.5)进行紫外检测</p>
废弃物有异味	<p>*本试剂中含<math>\beta</math>-巯基乙醇-<b>建议</b>：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</p>