

FastPure® Universal Plant Total RNA Isolation Kit

RC411



使用说明书

Version 21.1

目录 Contents

01/产品概述	02
02/产品组分	02
03/保存条件	02
04/适用范围	02
05/自备材料	03
06/注意事项	03
07/实验原理与流程概要	04
08/实验流程	05
08-1/样本处理	05
08-2/裂解液选择方案	05
08-3/RNA提取	05
09/常见问题与解决方案	07

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

01/产品概述

本试剂盒适用于从植物组织中快速提取总RNA。试剂盒包括两套溶液体系，可以解决各种简单的植物组织(小麦、水稻、玉米、拟南芥、烟草、油菜等)、富含多糖多酚的植物组织(棉花叶、大豆叶、松针、银杏叶、无花果叶、梔子叶、小麦种子、玉米种子、红豆种子、土豆、红薯、大豆种子、芝麻种子、花生种子、油菜籽等)、水果果肉(西瓜、苹果、桃、梨、香蕉、芒果等)、真菌(香菇、口蘑、平菇、粗糙脉孢菌等)的RNA提取。试剂盒采用硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用酚氯仿、β-巯基乙醇等有毒试剂，也无需耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需11 min。FastPure gDNA-Filter Columns III能有效地去除杂质和gDNA，FastPure RNA Columns V能高效地结合RNA，搭配优化后的Buffer，得到的总RNA纯度高、gDNA残留少、无蛋白和其他杂质污染，可用于RT-PCR、荧光定量PCR、RNA建库、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot和分子克隆等多种下游实验。

02/产品组分

组分	RC411-01 (50 rxns)
Buffer EL	40 ml
Buffer PSL	40 ml
Buffer RWA	40 ml
Buffer RWB	12 ml
RNase-free ddH ₂ O	10 ml
FastPure gDNA-Filter Columns III (each in a 2 ml Collection Tube)	50 个
FastPure RNA Columns V (each in a 2 ml Collection Tube)	50 个
RNase-free Collection Tubes 1.5 ml	50 个

Buffer EL：提供普通植物组织裂解所需的环境；

Buffer PSL：提供多糖多酚植物组织裂解所需的环境；

Buffer RWA：去除蛋白质、DNA等杂质；

Buffer RWB：去除盐离子残留；

RNase-free ddH₂O：洗脱总RNA；

FastPure gDNA-Filter Columns III：吸附DNA，去除裂解杂质；

FastPure RNA Columns V：特异性吸附RNA；

Collection Tubes 2 ml：收集滤液；

RNase-free Collection Tubes 1.5 ml：收集RNA。

03/保存条件

15 ~ 25℃保存，室温运输。

04/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

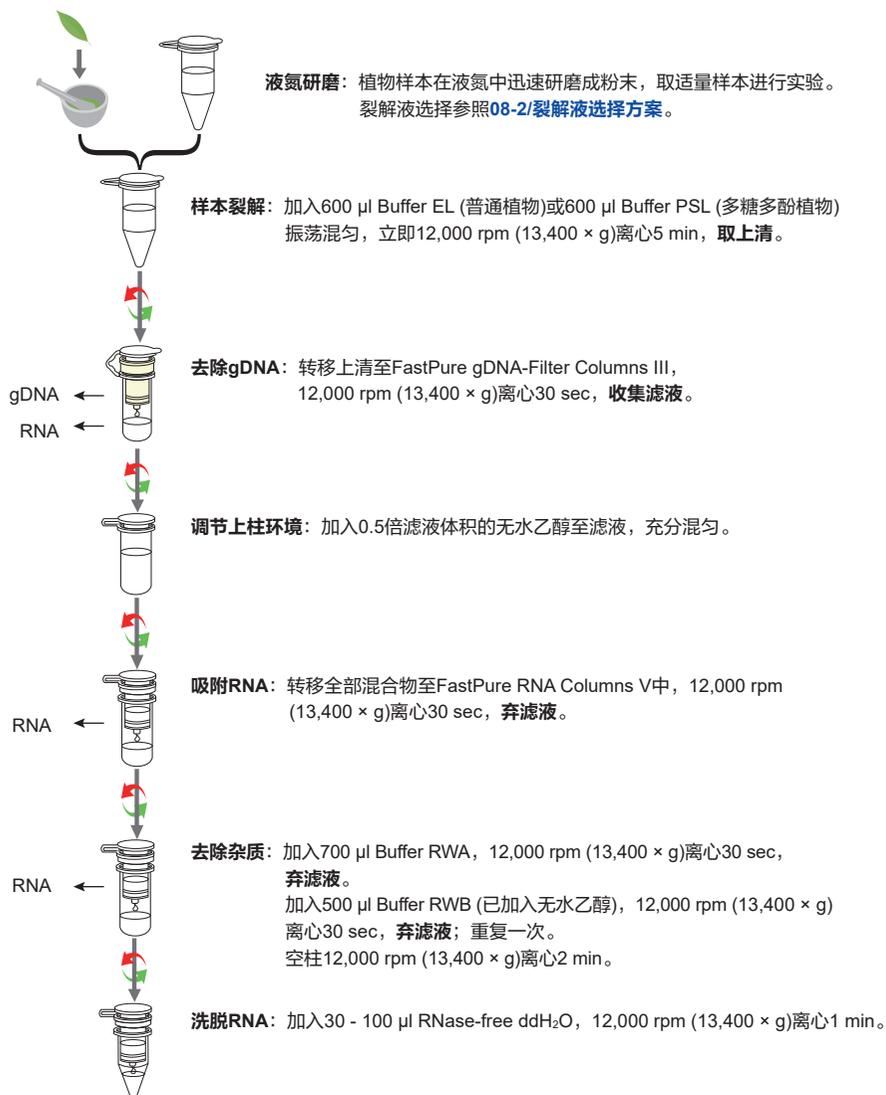
05/自备材料

无水乙醇、RNase-free枪头、研钵等。

06/注意事项

- 首次使用试剂盒前，请参考瓶上标签，在Buffer RWB中加入48 ml无水乙醇，并在瓶身及瓶盖做标记，混匀后方可使用。
- 使用前请检查Buffer EL、Buffer PSL中是否有晶体析出。若有晶体析出，可将Buffer置于65℃水浴加热使晶体溶解，混匀后方可使用。
- 样本处理：在推荐投入量范围内进行实验，后续可根据实验情况增加或者减少投入量。尽量不要超过推荐投入量，投入量过高会导致gDNA残留或提取产量下降。
- 使用新鲜样本时，若不能及时提取，将样本立即置于液氮中，速冻后于-85 ~ -65℃保存，并避免反复冻融；为了避免RNA的降解，样本的采集与保存应尽可能迅速。
- 液氮研磨时，为防止样本融化，需及时补给液氮。
- 样本从液氮中取出，需立即加入裂解液混合均匀，请勿将样本单独置于室温，样本融化或样本与裂解液混合不均匀都会导致RNA降解。
- 淀粉含量高的植物组织(如土豆、红薯、种子类等)与裂解液室温反应会产生胶状物质，接触时间越长，胶状物质越多，因此样本裂解后需尽快离心取上清加入到FastPure gDNA-Filter Columns III；取上清时需避免吸取到胶状物质，以免造成FastPure gDNA-Filter Columns III堵塞。
▲此类样本若需获取更高产量RNA，推荐使用FastPure Plant Total RNA Isolation Kit (Polysaccharides & Polyphenolics-rich) (Vazyme #RC401)。
- Buffer EL、Buffer PSL和Buffer RWA中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛，要用大量清水或者生理盐水冲洗，必要时及时就医。
- 经常更换新手套，并使用无RNase的塑料制品和枪头，避免RNase污染。
- 本试剂盒可去除体系中大部分的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。不同样本核酸含量相差大，如果下游实验对痕量DNA十分敏感，可以使用DNase I进一步清除DNA污染。
- 所有操作步骤，均在室温(15 ~ 25℃)下进行。

07/实验原理与流程概要



08/实验流程

08-1/样本处理

将新鲜或于-85~-65°C冻存的植物组织迅速转移至液氮预冷的研钵中，研磨组织，其间不断加入液氮以保证组织处于低温状态，直至研磨成粉末状(无明显颗粒，如果研磨不够充分，会影响RNA提取效率和质量)。

08-2/裂解液选择方案

样本种类	推荐投入量	材料示例	推荐裂解液	
			Buffer EL	Buffer PSL
简单植物组织 (幼嫩叶片、茎、根)	50 - 100 mg	小麦、水稻、玉米、拟南芥、烟草、油菜等	✓	
多糖多酚植物叶片		棉花叶、大豆叶、松针、银杏叶、无花果叶、 梔子叶等		✓
淀粉含量高的植物组织	20 - 50 mg	小麦种子、玉米种子、红豆种子、土豆、红 薯等		✓
油性高的植物组织		大豆种子、芝麻种子、花生种子、油菜籽等	✓	✓
水果果肉	100 - 200 mg	西瓜、苹果、桃、梨、香蕉、芒果等	✓	
真菌	20 - 100 mg	香菇、口蘑、平菇、粗糙脉孢菌等		✓

▲若不确定植物种类，推荐优先尝试Buffer PSL。

08-3/RNA提取

- 根据**08-2/裂解液选择方案**确定样本投入量及适宜的裂解液，取适量经液氮研磨的植物组织立即加入600 μ l Buffer EL或600 μ l Buffer PSL，剧烈涡旋振荡30 sec，使样本与裂解液充分混合均匀，12,000 rpm (13,400 \times g)离心5 min，立即进行后续操作。
 - ▲样本从液氮中取出，需立即加入裂解液混合均匀，请勿将样本单独置于室温，样本融化或样本与裂解液混合不均匀都会导致RNA降解。
 - ▲淀粉含量高的植物组织(如土豆、红薯、种子类等)与裂解液在室温下反应会产生胶状物质，接触时间越长，胶状物质越多，因此样本裂解后需尽快离心取上清加入到FastPure gDNA-Filter Columns III；取上清时需避免吸取到胶状物质，以免造成FastPure gDNA-Filter Columns III堵塞。
 - ▲离心后上清有少量漂浮物属正常现象，可直接进行后续实验。
- 取上清约500 μ l至FastPure gDNA-Filter Columns III (FastPure gDNA-Filter Columns III已放入收集管中)中，12,000 rpm (13,400 \times g)离心30 sec，弃掉FastPure gDNA-Filter Columns III，**收集滤液**。
 - ▲上清体积可根据实际情况做出相应调整。
 - ▲FastPure gDNA-Filter Columns III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。
- 向收集管中加入0.5倍滤液体积的无水乙醇(约250 μ l，根据上清实际情况调整)，振荡混匀15 sec。
 - ▲若加醇后出现浑浊或有絮状物产生，属正常现象，可将混合液(包括絮状物)继续进行后续操作。
- 将上述混合液转移至FastPure RNA Columns V (FastPure RNA Columns V已放入收集管中)中，12,000 rpm (13,400 \times g)离心30 sec，**弃滤液**。
 - ▲吸附柱容积为750 μ l，若混合液超过该体积请分多次进行上柱。

5. 向FastPure RNA Columns V中加入700 μ l Buffer RWA, 12,000 rpm (13,400 \times g)离心30 sec, **弃滤液**。
6. 向FastPure RNA Columns V中加入500 μ l Buffer RWB (使用前请检查是否已加入48 ml无水乙醇), 12,000 rpm (13,400 \times g)离心30 sec, **弃滤液**。
7. 重复步骤6。
8. 将FastPure RNA Columns V放回收集管中, 12,000 rpm (13,400 \times g)离心2 min。
9. 将FastPure RNA Columns V转移至新的RNase-free Collection Tubes 1.5 ml离心管中, 向吸附柱膜中央悬空滴加30 - 100 μ l的RNase-free ddH₂O, 12,000 rpm (13,400 \times g)离心1 min。
 - ▲洗脱体积建议不少于30 μ l, 体积过小会影响核酸回收效率。
 - ▲以下步骤都可以帮助提高RNA产物浓度:
 - RNase-free ddH₂O于65 $^{\circ}$ C预热;
 - 滴加RNase-free ddH₂O后室温静置5 min;
 - 将第一次洗脱液重新加入吸附柱进行洗脱。
10. 提取的RNA可直接用于下游实验或-85 ~ -65 $^{\circ}$ C保存。

09/常见问题与解决方案

常见问题	原因	解决方案
FastPure gDNA-Filter Column III柱 堵塞	1. 样本杂质过多	减少样本起始投入量或增加裂解液体积
	2. 样本裂解不充分	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，尽量避免吸取到大量沉淀，少量沉淀不会影响后续实验
	3. 样本投入量过高	样本起始投入量建议按照说明书进行操作
未提取到RNA 或产量低	1. 样本保存不当	从植株上取下的组织需立即置于液氮中速冻，之后于-85 ~ -65℃保存，避免样本反复冻融
	2. 样本裂解不充分	液氮研磨时，确保研磨充分，迅速加入裂解液充分混合均匀，未及时将样本与裂解液混合均匀可能导致样本RNA降解或产量低
	3. 样本投入量过高或过低	样本起始投入量建议按照说明书进行操作
	4. 洗脱不充分	洗脱体积不少于30 μl，RNase-free ddH ₂ O可于65℃预热，加至膜中央，室温放置5 min或进行二次洗脱
RNA降解	1. 样本保存不当或样本保存时间过久	采用新鲜样本或经液氮速冻后保存于-85 ~ -65℃的样本
	2. 样本反复冻融	样本保存时，建议分装后保存，避免因反复冻融导致的降解；从液氮中取出的样本应迅速加入裂解液并充分混合均匀，防止样本因置于室温时间过长或与裂解液混合不均匀导致RNA降解
	3. 电泳原因	电泳前将电泳槽用3%双氧水浸泡20 min，或使用Vazyme #R504处理5 min，然后用RNase-free ddH ₂ O进行冲洗；电泳缓冲液用RNase-free ddH ₂ O配制；更换新的Loading Buffer
	4. 存在RNase污染	确保提取过程中使用的枪头和离心管均为RNase-free
抑制下游或纯度低	1. 盐离子残留	确保Buffer RWB漂洗两次；沿吸附柱管壁四周加入Buffer RWB，或加入Buffer RWB后盖盖颠倒混匀2 - 3次，有助于完全冲洗管壁上的盐分
	2. 乙醇残留	空管离心后室温放置5 min，最大程度去除乙醇残留
基因组 DNA污染	1. 样本投入量过高	减少样本起始投入量
		用DNase I进行膜上消化清除DNA污染
		逆转录时选择含有基因组去除模块的逆转录试剂，推荐使用HiScript III RT SuperMix for qPCR (+gDNA wiper) (Vazyme #R323)
		设计引物时选用跨内含子的引物，从而避免基因组DNA模板参与扩增反应

▲具体操作联系诺唯赞技术支持获取帮助：support@Vazyme.com



Vazyme Biotech Co., Ltd.

Web: www.vazyme.com

Tel: +86-400-600-9335

Sales: sales@vazyme.com

Support: support@vazyme.com

