

# 植物组织 RNA 提取试剂盒（柱式法）使用说明书

## 【预期用途】

植物组织 RNA 提取试剂盒（柱式法）用于从各种植物组织中分离纯化 RNA。

## 【检验原理】

破坏组织，释放细胞。裂解液裂解细胞释放核酸，并保护 RNA 不被核酸酶水解。中和缓冲液清除 DNA，硅胶膜高效吸附 RNA，洗涤吸附柱，去除蛋白、盐等杂质。在洗脱液作用下，硅胶膜释放吸附的 RNA，从而获得高质量的 RNA。

## 【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-PTR01N	细胞裂解液 N	25mL×1 瓶	50mL×1 瓶	100mL×1 瓶
	中和缓冲液 M	7.5mL×1 瓶	15mL×1 瓶	30mL×1 瓶
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	吸附柱（含收集管）	50 支	100 支	200 支
	洗脱液 A	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

所有试剂：常温（10-30°C）运输保存。有效期 1 年。

## 【注意事项】 使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 提前配制 RAW1，RAW1 中乙醇含量低于 60%会影响提取效率。
2. 提前配制 80%乙醇水溶液，乙醇水溶液中乙醇含量低于 80%会影响提取效率。
3. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
4. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品，本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品，但细胞裂解液 N、中和缓冲液 M 和 RAW1 缓冲液中含刺激性化合物，操作时做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
5. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

## 【样本要求】

≤100mg 的新鲜植物组织。

## 【自备器械和试剂】

小型高速离心机（最大离心力 $\geq 12,000\times g$ ）、高速匀浆器（研钵、液氮）、1.5mL 离心管、无水乙醇和异丙醇等。

- **RAW1 配制：**RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：**1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。

## 【样本处理】

### 按下表说明使用植物组织的量

植物种子、嫩芽和嫩叶	10-30mg
植物纤维组织	30-100mg

### 1. 液氮研磨法

1.1 取 $\leq 100\text{mg}$  细碎的植物组织，转移至预冷的研钵中，加液氮磨成粉末。

1.2 将组织粉末转移至 1.5mL 离心管中，将液氮充分挥发。

1.3 加入 450 $\mu\text{L}$  细胞裂解液 N，吹打混匀。12,000 $\times g$  离心 1 分钟。

1.4 吸取 400 $\mu\text{L}$  上清转入至 1.5mL 离心管中。

►液氮挥发和研磨必须充分，否则将影响 RNA 的提取效率。

### 2. 高速匀浆法

2.1 在 2mL 平底离心管中加入 500 $\mu\text{L}$  细胞裂解液 N 和 $\leq 100\text{mg}$  细碎的植物组织，高速匀浆器充分匀浆。12,000 $\times g$  离心 1 分钟。

2.2 吸取 400 $\mu\text{L}$  上清转入至 1.5mL 离心管中。

►高速匀浆法处理植物组织时，植物组织使用前应尽量搅碎（捣碎）。

►果肉（需挤干水分后取果肉纤维）、果皮等组织推荐使用液氮研磨法进行处理。

►匀浆必须充分，否则将影响 RNA 的提取效率。

## 【操作步骤】

1. 在含上述处理后样本离心管中加入 150 $\mu$ L 中和缓冲液 M，充分吹打混匀。

---

2. 闭盖 12,000 $\times g$  离心 5 分钟。

3. 吸取 500 $\mu$ L 上清至 1.5mL 离心管中，加入 200 $\mu$ L 异丙醇，吹打混匀。将吸附柱放入收集管中，转移所有液体至吸附柱。

➤尽量避免吸入沉淀。

➤用 250 $\mu$ L 无水乙醇替代 200 $\mu$ L 异丙醇也可以获得满意的提取效果。

4. 闭盖。12,000 $\times g$  离心 2 分钟。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

5. 开盖，在吸附柱中加入 600 $\mu$ L RAW1，闭盖 12,000 $\times g$  离心 20 秒。取出吸附柱，弃去废液，将吸附柱重新放入收集管中。

➤加入 RAW1 时，避免 RAW1 接触吸附柱的管口。

6. 开盖，在吸附柱中加入 600 $\mu$ L 80%乙醇水溶液，闭盖 12,000 $\times g$  离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

7. 开盖，在吸附柱中加入 600 $\mu$ L 80%乙醇水溶液，闭盖 12,000 $\times g$  离心 20 秒。取出吸附柱，丢弃收集管。

8. 将吸附柱放入新的 1.5mL 离心管中，闭盖 12,000 $\times g$  离心 3 分钟。取出吸附柱，丢弃离心管。

9. 将吸附柱转入新的 1.5mL 离心管中，开盖，加入 50 $\mu$ L 洗脱液 A 至吸附柱中心。闭盖室温静置 1 分钟，12,000 $\times g$  离心 1 分钟，收集洗脱液，备用。

➤洗脱液 A 的使用量可以根据需要调整，但用量不得低于 30 $\mu$ L。

➤洗脱液 A 的使用量太少会影响提取效果。

## 【植物组织 RNA 提取（柱式法）常见问题】

常见问题	原因	解决方案
吸附柱堵塞	1. 样本使用量过多	减少样本使用量，植物组织不超过 100 mg。
	2. 组织研磨或匀浆不充分	样本处理采用液氮研磨、增加研磨时间和力度可以获得较好的提取效果；研磨或匀浆后需先用 12,000×g 离心裂解样本 1min，再取上清进行后续提取。
未提取到 RNA 或产量低	1. 样本使用量过少	增加样本使用量，但植物组织不超过 100mg。
	2. 样本保存不当	采用新鲜的样本。
	3. 组织研磨或匀浆不充分	增加研磨或匀浆时间和力度。
	4. 裂解液和中和缓冲液使用不当	按说明书正确加入裂解液和中和缓冲液。
	5. 异丙醇使用量过少或过多	按说明书准确加入异丙醇。
	6. RAW1 中乙醇添加比例不当	使用无水乙醇配制 RAW1，使乙醇含量达 60%。
	7. 80%乙醇水溶液配制不当	使用无水乙醇配制 80%乙醇水溶液，乙醇含量达 80%。
	8. 洗脱不当	洗脱液加至膜中央，适当减少洗脱体积，可 65°C 预热洗脱液、延长室温静置时间或者进行二次洗脱。
RNA 降解	1. 样本存放时间过长	采用新鲜的样本。
	2. 电泳污染和环境污染	电泳前确保电泳槽、制胶板和电泳液无 RNase 污染，如有污染 ① 使用洗洁精充分清洗电泳槽和制胶板，再用 3% 双氧水浸泡 20 min，然后用 RNase-free ddH <sub>2</sub> O 进行冲洗；② 或使用本公司的核酸酶清除剂 (MDT-NSS) 清除 RNase；使用 RNase-free ddH <sub>2</sub> O 配制电泳缓冲液。
纯度低	1. 盐离子残留	加入 RAW1 后闭盖静置 30 秒；避免 RAW1 接触吸附柱上下口；使用 80%乙醇水溶液再洗涤 1 次。
	2. 蛋白残留	有些样本蛋白含量较高，容易导致蛋白残留。减少样本使用量；加入 RAW1 后闭盖静置 30 秒；增加 1 次 RAW1 洗涤。
	3. 乙醇残留	最后一次洗涤后，吸附柱闭盖 12,000×g 再离心 3 分钟。
gDNA 污染	1. 样本使用量过高	不同样本中 DNA 含量相差大，减少样本使用量，植物组织不超过 100mg。
	2. 裂解液和中和缓冲液使用不当	按说明书正确加入裂解液和中和缓冲液。

【说明书编制日期】2024 年 01 月 25 日

## 【基本信息】

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司

公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室

网 址：[www.wuxi-medtech.com](http://www.wuxi-medtech.com)

联系电话: 173 1562 0564 (微信同号); 138 6175 7779 (微信同号)