AipPure 多糖多酚植物 RNA 提取试剂(溶液型)

AipPure Polysaccharide Polyphenols Plant RNA Extraction Reagent(Solution Type)

使 用 说 明 书

◆目录号：RE212

目录编号	包装单位
RE212-01	20mL
RE212-02	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℃保存，有效期 12 个月。

◆产品介绍：AipEasy 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、西红柿叶等)，提取高纯度的总 RNA。每 100mL 可处理 100mg 组织 200 次，处理 5g 组织 4 次。

◆操作方法：

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

样品处理：

a. 先将 RNase-free 离心管置于干冰中再放入研磨好的冷冻的组织样品。
b. 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。
c. 处理过的植物材料应一直保持置于－70℃冷冻保存，直至加入提取试剂并悬浮。

1. **小量提取操作步骤：**(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 12,000rpm 离心 1 分钟，上清转入新的 RNase-free 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℃ 12,000rpm 离心 10 分钟，取上层水相转入新的 RNase-free 离心管。
      注：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℃ 12,000rpm 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℃ 5,000rpm 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 50μLRNase-free 水，反复吹打混匀以充分溶解 RNA。如有絮状物，可室温 12,000rpm 离心 1 分钟，取上清转入干净的 RNase-free 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℃ 10,000rpm 离心 1 分钟，上清转入新的 RNase-free 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℃ 10,000rpm 离心 15 分钟，取上层水相转入新的 RNase-free 离心管。
      注：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℃ 10,000rpm 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℃ 5,000rpm 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 RNase-free 水，反复吹打混匀充分溶解 RNA(如每 1g 叶片可加 200μL 水)。如有絮状物，可室温 12,000rpm 离心 1 分钟，取上清转入干净的 RNase-free 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	* 样品研磨不充分-**建议**：将样品充分研磨成粉末。 * 样品未与试剂充分混合-**建议**：充分振荡，彻底混合样品。 * 样品 RNA 含量少-建议：每 mL 提取液加 1μL Glycogen(20μg/μL)有助 RNA 沉淀。 * 尼龙膜堵塞-建议：可使用纱布过滤。
RNA 降解	* 样品储存方法不当-**建议**：样品收集后或需长期保存时应置于－70℃。 * 加入试剂前样品已解冻-**建议**：样品应一直保持－70℃直至加入试剂并悬浮。
A260/A280 比率低	* RNA 溶于水-**建议**：将 RNA 溶于 10mM Tris-HCl(pH7.5)进行紫外检测。

废弃物有异味	* 本试剂中含β-巯基乙醇-**建议：**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。

==========

扫码关注我们