



**ELK Biotechnology**  
For research use only.

## 植物 RNA 提取试剂盒

货号	规格	储藏/有效期
EP018-50T	50T	室温/一年
EP018-200T	200T	室温/一年

### 产品介绍

经研磨处理的植物组织被强烈的裂解液溶解并过滤去除蛋白杂质和细胞碎片。柱纯化技术高效去除残留的蛋白与 PCR 抑制物, RNA 经**去蛋白液 RRPB**和**洗涤液 RWB**洗涤后,用 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 洗脱,即可用于各种分子生物学实验。

### 试剂盒组成

成分	EP018-50T	EP018-200T	Storage
裂解液 REL	50 ml	200 ml	RT
RNA 去蛋白液 RRPB	60 ml	240 ml	RT
DNase I 储备液	525 $\mu$ l	2.1 ml	-20°C
DNase I Buffer RDB	4 ml	20 ml	RT
洗涤液 RWB	60 ml	240 ml	RT
吸附柱 R 柱	50 套	200 套	RT
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	40 ml	160 ml	RT
说明书	1 份	1 份	RT

### 一、使用前准备

**RRPB:** 使用前请将无水乙醇加入 RRPB (试剂瓶上有标签提示) 中。

**RWB:** 使用前请将无水乙醇加入 RWB (试剂瓶上有标签提示) 中。

裂解液在储存时可能会形成沉淀,如果有沉淀出现,可 60-65°C 水浴溶解后使用。



## ELK Biotechnology

For research use only.

### 二、操作步骤

1. 取 100mg 植物样本用液氮研磨至粉末状, 收集粉末状样本于预冷的 1.5mL EP 管中, 加入 600ul 裂解液, 并加入 2%β-巯基乙醇 (可加可不加), 充分震荡混匀。

注意: 叶片类的样本尽量取新叶或叶尖幼嫩部分; 果实、块茎、花瓣类样本, 建议上样量 150 mg; 红豆等干的种子类样本, 建议上样量 60-100 mg, 因为吸水, 裂解液增加到 1 ml 体积。

2. 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 5 min, 取上清于新的 1.5mL EP 管中进行下述操作。
3. 缓慢加入 0.3 倍上清体积异丙醇 (客户自备), 颠倒混匀 (请勿剧烈震荡, 此时可能会出现沉淀), 得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱 R 柱中 (吸附柱放在收集管中), 10,000 rpm (~10,000×g) 离心 1min, 弃掉收集管中的废液, 将吸附柱 R 柱放回收集管中。(吸附柱一次可装入 700μl 溶液, 若一次不能将溶液和沉淀全部加入, 请分多次转入吸附柱 R 柱中)。
4. 向吸附柱 R 柱中加入 500 μl **去蛋白液 RRPB**, 10,000rpm (~10,000×g) 离心 1min。
5. 配制 DNase I 工作液: 取 10 μl DNase I 储备液于新的 RNase-Free EP 管中, 加入 70 μl **DNase I 缓冲液 RDB**, 混匀 (DNase I 工作液最好现配现用)。
6. 向吸附柱 R 柱中加入 80 μl **DNase I 工作液**, 室温放置 10min。
7. 向吸附柱 R 柱中加入 500 μl **去蛋白液 RRPB**, 10,000rpm (~10,000×g) 离心 1min。
8. 向吸附柱 R 柱中加入 500 μl **漂洗液 RWB** (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 室温静置 2 min, 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 1min, 弃废液, 将吸附柱 R 柱放回收集管中。
9. 重复步骤 8。
10. 12,000 rpm (~13,400×g) 空离 2 min, 倒掉废液。将吸附柱 R 柱置于超净台中放置数分钟, 以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意: 此步骤目的是将吸附柱 R 柱中残余的漂洗液去除, 漂洗液的残留, 可能会影响后续的 RT 等实验。

11. 将吸附柱 R 柱转入一个新的 RNase-Free 离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 30-100 μl **RNase-Free ddH<sub>2</sub>O**, 室温放置 2 min, 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 min, 得到 RNA 溶液。

注意: 洗脱缓冲液体积不应少于 30 μl, 体积过小影响回收效率。RNA 溶液请于 -70°C 保存。



**ELK Biotechnology**  
For research use only.

**RNA 纯度及浓度检测**

**完整性:** RNA 可用普通琼脂糖凝胶电泳 (电泳条件: 胶浓度 1.2%; 1×TAE 电泳缓冲液; 120V, 20 min) 检测完整性。由于细胞中 70%-80% 的 RNA 为 rRNA, 电泳后 UV 下应能看到非常明显的 rRNA 条带。 28S rRNA 的量约为 18S rRNA 的两倍, 说明 RNA 的完整性较好。

**纯度:**  $OD_{260}/OD_{280}$  比值是衡量蛋白质污染程度的指标。高质量的 RNA,  $OD_{260}/OD_{280}$  读数在 1.8-2.1 之间, 比值为 2.0 是高质量 RNA 的标志。 $OD_{260}/OD_{280}$  读数受测定所用溶液的 pH 值影响。同一个 RNA 样品, 假定在 10 mM Tris, pH7.5 溶液中测出的  $OD_{260}/OD_{280}$  读数 1.8-2.1 之间, 在水溶液中所测读数则可能在 1.5-1.9 之间, 但这并不表示 RNA 不纯。

**浓度:** 取一定量的 RNA 提取物, 用 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 稀释 n 倍, 用 RNase-Free ddH<sub>2</sub>O 将分光光度计调零, 取稀释液进行  $OD_{260}/OD_{280}$  测定, 按照以下公式进行 RNA 浓度的计算:

$$\text{终浓度 (ng/}\mu\text{l)} = (OD_{260}) \times (\text{稀释倍数 } n) \times 40$$