

## Trelief® Hi-Pure Plant RNA Plus Kit (Polysaccharides & Polyphenolics-rich)

Hi-Pure多糖多酚植物总RNA提取试剂盒(双柱型)

### ■ 目录号

TSP0202

### ■ 产品简介

本试剂盒适用于从50~100 mg常规和多糖多酚的植物或真菌样品中提取总RNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术,无需使用有毒的酚/氯仿试剂,提取只需20~30 min。并采用DNA过滤技术,可高效快速地过滤去除DNA。提取所得的RNA可直接用于RT-PCR、Northern Blot、Ploy(A) 纯化、RNase保护分析和体外翻译等实验。

### ■ 产品组成

组分	规格(50次)
Buffer PR1	50 mL
Buffer PR2	22 mL
Buffer PR3	20 mL
RNase-Free ddH <sub>2</sub> O	10 mL
RNA吸附柱	50个
gDNA过滤柱	50个
2 mL收集管	100个
RNase-Free 1.5 mL离心管	50个

01

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

### ■ 产品应用

本产品适用于从50~100 mg常规和多糖多酚的植物或真菌样品中提取总RNA。

### ■ 注意事项及准备

- 1.使用之前,向Buffer PR2中加入28 mL无水乙醇,向Buffer PR3中加入80 mL无水乙醇。
- 2.本产品在不使用β-巯基乙醇时,多数情况下也可得到完整的RNA。如需要提升裂解液的变性能力,可将每1 mL Buffer PR1加入50 μL β-巯基乙醇,混匀后使用。
- 3.如Buffer PR1有沉淀形成,置于37°C水浴溶解即可正常使用。

### ■ 使用方法

1.取50~100 mg植物样品,液氮研磨成细小粉末,置于1.5 mL预冷的离心管中。立即加入750 μL Buffer PR1至样品中,立即振荡混匀。12,000 rpm(~13,400×g)离心5 min。

**注:真菌样品取样量参考植物样品。**

2.将gDNA过滤柱装在收集管中,转移上清液至过滤柱中,12,000 rpm(~13,400×g)离心1 min,弃去gDNA过滤柱,吸取收集管中的上清至新的离心管中,吸头避免接触收集管中的细胞碎片沉淀。

**注:若DNA出现堵柱现象,则延长离心时间或增加离心速度。**

3.加入0.4倍上清体积的无水乙醇(通常为300 μL)至滤液中,用移液枪吸打3~5次。

4.将RNA吸附柱装在收集管中,转移一半混合液至柱

02

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

子中,12,000 rpm(~13,400×g)离心1 min。

5.弃废液,将柱子装回收集管中,转移剩余混合液至柱子中,12,000 rpm(~13,400×g)离心1 min。

6.弃废液,将柱子装回收集管中,加入650 μL Buffer PR2至柱子中,12,000 rpm(~13,400×g)离心1 min。

7.弃废液,将柱子装回收集管,加入650 μL Buffer PR3至柱子中,12,000 rpm(~13,400×g)离心1 min。

8.弃废液,将柱子装回收集管,加入650 μL无水乙醇至柱子中,12,000 rpm(~13,400×g)离心1 min。

9.弃废液,将柱子装回收集管,12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min。弃废液,将柱子于室温放置数分钟,以彻底晾干残余的漂洗液。

10.将柱子转移至新的离心管中,向吸附膜中心部位悬空滴加30~100 μL RNase-Free ddH<sub>2</sub>O,室温静置2 min,12,000 rpm(~13,400×g)离心1 min。提取的RNA可直接用于下游实验或于-80°C保存。

**注:柱子最小的洗脱体积是30 μL,若预期RNA产量超过30 μg,推荐进行第二次洗脱。**

### ■ 保存条件

室温(15~25°C)保存,保质期18个月。

### ■ 常见问题及解决方案

1.柱子堵塞

1) 样品用量太多:减少样品量,超量样品反而会降低产量和纯度。推荐植物样品降低至20~30 mg。

2) 裂解液离心不充分:加大裂解液用量,延长裂解产物离心时间以去除高分子量杂质。

03

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

## 2.RNA产量低

1) 洗脱不充分: RNase-Free ddH<sub>2</sub>O需直接加到吸附膜上, 并静置几分钟后再离心, 进行第二步洗脱以提高产量。

## 3.RNA降解

1) RNase-Free ddH<sub>2</sub>O被污染: RNase-Free ddH<sub>2</sub>O不含抑菌剂, 室温放置或操作时可能会引入细菌或真菌污染。更换新的RNase-Free ddH<sub>2</sub>O或DEPC处理水即可。

2) 样品保存问题: 反复解冻会引起RNA降解, 确保样品解冻次数不要超过2次。

3) 裂解问题: 液氮研磨后避免样品解冻, 并快速加入裂解液立即打散样品。样品充分打散裂解, 内源核酸酶被灭活, 方可避免RNA被其降解。

4) 电泳原因: 常见的RNA降解现象都是电泳过程中引起的。更换新的Loading Buffer和电泳缓冲液即可。

## ■ RNA产物完整度及纯度检测

### 1. RNA产物完整度检测

RNA可用普通琼脂糖凝胶电泳检测完整度。如果28S和18S条带明亮、清晰、条带锐利(条带的边缘清晰), 并且28S的亮度在18S条带的两倍以上, 可以认为RNA的质量较好, 否则表示RNA出现降解。若出现弥散片状或条带消失表明RNA严重降解。

### 2. RNA产物纯度检测

A <sub>260</sub>	核酸最大吸收峰
A <sub>280</sub>	蛋白质最大吸收峰
A <sub>230</sub>	其他杂质(多糖、胍盐等)吸收峰

04

本产品仅供研究使用, 不用于临床诊断。

当 $1.8 < A_{260}/A_{280} < 2.1$ 时, 表明RNA较纯且没有蛋白质污染;

当 $A_{260}/A_{280} > 2.2$ 时, 表明RNA已水解为单核苷酸。

## ■ 技术支持

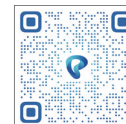
本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议, 欢迎随时与我们联系: product@tsingke.com.cn。

## ■ 关联产品推荐

产品名称	货号	应用
高效植物基因组DNA提取试剂盒	TSP102-50	适用于常规植物基因组DNA的提取
RNAprep Pure 植物总RNA提取试剂盒(离心柱型)	TSP411	适用于常规植物总RNA的提取
SynScript III RT SuperMix for qPCR (+gDNA Remover)	TSK314M	本产品合成的第一链cDNA主要用于实时荧光定量PCR扩增反应
ArtiCan <sup>CEO</sup> SYBR qPCR Mix	TSE401	适用于SYBR Green染料法检测及分析的荧光定量实验
ArtiCan <sup>ATM</sup> SYBR qPCR Mix	TSE501	适用于SYBR Green染料法检测及分析的荧光定量实验

05

本产品仅供研究使用, 不用于临床诊断。



06

网址: www.tsingke.com.cn

地址: 湖北省鄂州市葛店开发区东湖高新智慧城7栋



1.1.1.20231025