

MonPure™ Plant RNA Kit **(polysaccharide & polyphenol-rich)**

MI10101S

使用说明书

Version 2.0

【产品名称】

英文名称: MonPure™ Plant RNA Kit (polysaccharide & polyphenol-rich)

中文名称: 高多糖多酚植物总 RNA 提取试剂盒

【包装规格】

50 Preps / 盒

【产品介绍】

本试剂盒可从 50~200mg 植物组织，特别是富含多糖多酚或淀粉的植物组织（如棉花叶片、成熟水稻、拟南芥种子、马铃薯、月季、苹果等）的中分离纯化总 RNA。植物组织经裂解液和 Buffer EX 抽提获得含有 RNA 的上清液，补加乙醇后加入纯化柱，RNA 结合在纯化柱上，溶解的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去。RNA 经两种洗液洗涤后，用 RNase-free water 洗脱，即可用于 RT-PCR，Northern blot，Dot blot，mRNA 分离等各种分子生物学实验。

【适用范围】

植物叶片样本（如棉花叶片、成熟水稻叶片等），果肉（苹果、梨等），种子样本（拟南芥种子等）。

* 由于植物样本多样性非常丰富，而且同种植物的不同生长发育阶段和不同组织的 RNA 含量都不相同，请根据具体实验情况选择合适的植物材料的用量。

【主要组成成分】

组分 / 规格	MI10101S(50Preps)	储存条件	运输条件
MonPure™ Filter Columns	50 套	室温或 2~8℃	室温
MonPure™ Spin Columns	50 套	室温或 2~8℃	室温
2-Mercaptoethanol	500 µl	室温或 2~8℃	室温
PS &PP Plant RNA Buffer RCT	32 ml	室温或 2~8℃	室温
PS &PP Plant RNA Buffer EX	32 ml	室温或 2~8℃	室温
PS &PP Plant RNA Buffer K	20 ml	室温或 2~8℃	室温
PS &PP Plant RNA Buffer WA	12 ml	室温或 2~8℃	室温
PS &PP Plant RNA Buffer WBR	10 ml	室温或 2~8℃	室温
RNase-free Water	2 ml*3	室温或 2~8℃	室温
说明书	1 份	室温	室温

【储存条件及有效期】

试剂如果储存于常温，可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

【自备材料】

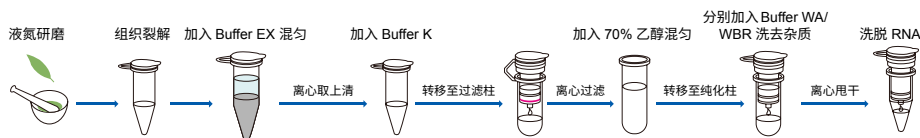
- a) 自备试剂: 无水乙醇、70% 乙醇；
- b) 自备耗材: 1.5 ml RNase-free 离心管、吸头、移液器；
- c) 自备设备: 涡旋振荡器、台式离心机（可适配 1.5 ml / 2 ml 离心管）、程序式冷冻组织破碎仪（可选）。

【实验流程】

一、使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
2. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并做好标记。
3. 检查 Buffer RCT 是否有沉淀物析出，如有沉淀物请于 60℃温育溶解后再使用。
4. 每 1 ml Buffer RCT 中加入 10 µl 2-Mercaptoethanol，混合均匀。加入 2-Mercaptoethanol 的 Buffer RCT 一个月内使用不影响实验结果。
5. 当使用 Buffer RCL、Buffer EX、Buffer WA 工作时，请穿戴乳胶手套、口罩、防护眼镜和实验服，避免沾染皮肤、眼睛，谨防吸入口鼻。
6. 操作过程在专用的 RNA 实验室，使用 RNase-free 的实验器具等。

二、操作流程示意图



三、操作步骤

1. 在研钵中称取 200~500 mg 植物组织，加入液氮，将组织研磨至粉末状（或使用程序式冷冻组织破碎仪 GS60201），再用液氮预冷的 1.5 ml 离心管称取 50~200 mg 研磨成粉末状的组织。
* 研磨组织时应及时补加液氮，避免组织融化，以免内源性的 RNA 酶恢复活性而降解 RNA。
* 只有 RNA 含量低的样本（如土豆块茎、西瓜瓜瓤等）才推荐用到 200 mg 组织的用量；对于嫩叶、嫩芽等 RNA 含量高的样本，用量应控制在 100 mg 以内，否则可能导致过滤柱或纯化柱堵塞；新鲜嫩芽中核酸含量高，基因组 DNA 可能会残留比较多，推荐进行 DNase I 消化。
2. 加入 600 μ l 已加入 2-Mercaptoethanol 的 Buffer RCT，旋涡振荡直至组织全部溶解。
3. 加入 600 μ l Buffer EX，用力混合均匀，12,000 rpm (10,012 g) 离心 5 分钟。
4. 小心吸取 350 μ l 上清液，转入一个洁净的 1.5 ml 离心管中。
* 注意不要带入中间的蛋白沉淀物。
5. 在上清液中加入 350 μ l Buffer K 并直接用吸头吸注 6~8 次混合均匀，将混合液全部转移到过滤柱中，盖上管盖，13,000 rpm (11,750 g) 离心 1 分钟。
* 勿省略本步骤，否则可能导致后续的操作步骤中堵塞纯化柱。
6. 弃过滤柱，向滤液中加入 700 μ l 70% 乙醇并直接用吸头吸注 6~8 次混合均匀，吸取 700 μ l 混合液加入到核酸纯化柱中，盖上管盖，13,000 rpm (11,750 g) 离心 1 分钟。
* 加入 70% 乙醇混合后如果有沉淀产生，请将沉淀一起加入到核酸纯化柱中。
7. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，吸取剩余的混合液加入到核酸纯化柱中，13,000 rpm (11,750 g) 离心 1 分钟。
8. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 500 μ l Buffer WA，盖上管盖，13,000 rpm (11,750 g) 离心 1 分钟。
9. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 600 μ l Buffer WBR，盖上管盖，13,000 rpm (11,750 g) 离心 1 分钟。
10. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，14,000 rpm (13,628 g) 离心 1 分钟（或 $\geq 13,000$ rpm (11,750 g) 离心 2min）。
11. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 RNase-free 的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入 50~100 μ l RNase-free water，盖上管盖，室温静置 1 分钟，13,000 rpm (11,750 g) 离心 1 分钟。
12. 弃纯化柱，洗脱的 RNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 RNA 储存于 -70°C 以下备用。

【常见问题与解决方案】

问题描述	可能原因	解决方法
纯化柱堵塞	样本中 RNA 含量太高	减少样本的使用量。
	样本研磨不充分	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。
RNA 降解	样品保存	选用新鲜的、未反复冻融的样本；组织样本取材后应立即置于液氮中速冻，然后移至 -70℃ 冰箱保存。
	外源 RNA 酶的污染	操作过程在专用的 RNA 实验室，使用 RNase-free 的实验器具等。
RNA 得率低	洗脱效率低	37℃ 预热 RNase-free water 或增长纯化柱静置时间能提高 RNA 的洗脱效率；过度干燥的纯化柱会不利于 RNA 的洗脱。
	Buffer WA、Buffer WBR 中未加入无水乙醇	确保试剂盒使用前已经在 Buffer WA 和 Buffer WBR 中加入无水乙醇。
	样本中 RNA 含量低	适当增加样本的使用量；如样本未充分破碎或匀浆不彻底，增加匀浆时间或使用组织匀浆仪器。
RNA 后续实验效果不佳	盐分残留过多	注意 Buffer WA 和 Buffer WBR 的洗涤顺序，确保按正确的顺序洗涤纯化柱。
	乙醇残留过多	注意高速空离步骤不可省略，并且空离后的核酸纯化柱应小心取出，避免倒置，以免使 2 ml 离心管管底的残留滤液接触到核酸纯化柱。
	过多的 RNA 用作反转录模板	通常 20 µl 反转录反应体系中加入 100~1000 ng RNA 作为模板比较适宜。注意 cDNA 作为 PCR 模板时需要适当稀释，以免残留的反转录酶（包括已经失活的反转录酶）干扰 Taq 酶的活性。
	DNA-RNA 复合体对荧光 PCR 的影响	建议减少随机引物的用量或用特异性引物进行反转录，或者在反转录后添加 RNase H 进行处理，去除 DNA-RNA 复合体。
DNA 残留	样本用量过多	选择合适的样本起始量。
	吸取到中间相	小心吸取水相，若不慎吸取到中间相，可将液体打回离心管，盖上管盖，用力摇晃 15 秒，12000 rpm 离心 15 分钟后更换新吸头小心吸取水相。
	样本用量过多	选择合适的样本起始量。 反转录时选用含有基因组去除的反转录试剂。

☎ 400-928-3698

莫纳生物科技有限公司
Monad Biotech Co., Ltd.

E-mail: support@monadbiotech.com
www.monadbiotech.com

