

## Toll-free:400-611-2007

Order:010-62617225 62979301 Email:zomanbio@126.com Http://www.zomanbio.com



版本号:2025-11-04

# 高效多酚多糖植物DNA/RNA提取试剂盒

High-efficiency Complex Plant DNA/RNA Kit

目录号: ZP437

试剂盒组成	ZP437-1 50次	ZP437-2 100次
植物裂解液RA	60ml	120ml
RNA回收液RR	30 ml	60 ml
去蛋白液CR	80 ml	160 ml
漂洗液RW	2×15 ml	4×15 ml
缓冲液TE	10 ml	20ml
RNase-free ddH2O	10 ml	20 ml
gDNA清除柱	50个	100个
RNA吸附柱	50个	100个
收集管(2 ml)	100个	200个
说明书	1份	1份

# ■ 客户自备

β-巯基乙醇, 无水乙醇, 氯仿

# ■ 储存条件

试剂置于室温(15-25°C)干燥条件下可保存12个月;更长时间的保存可置于2-8°C。

实验室使用, 仅用于科研



## ■ 产品简介

本试剂盒采用独特的RNA抽提缓冲液系统。植物裂解液RA高效地裂解细胞和抑制RNase,离心去除多酚多糖和杂质,上清通过乙醇结合使得DNA/RNA吸附到gDNA清除柱,然后在RNA回收液RR的洗脱下,RNA被选择性滤过,gDNA依旧吸附在gDNA清除柱上。滤过的RNA用乙醇调节结合条件后,RNA在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜,再通过一系列快速的漂洗一离心的步骤,去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除,最后TE/RNase-free ddH2O将纯净的DNA/RNA从硅基质膜上洗脱。

## ■ 产品特点

- 1. 简单快速:大约30分钟即可获得超纯的植物DNA和总RNA。
- 2. 提取量大: 提取得率高,最高能到达75µg。
- 3. 适用范围广: 适用干普通植物和大部分多酚多糖植物。
- 注意事项(请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项)

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

- 1. 样品应避免反复冻融,否则会导致提取的RNA片段较小且提取量也下降。
- 2. 若植物裂解液RA中有沉淀,可在65°C水浴中重新溶解,并摇匀后使用。
- 3. 研磨样品时请按说明书将样品研磨至极细小粉末状,否则会影响RNA得率。
- 4. 所有的试剂耗材均需要无RNase。

# ■ 操作步骤(实验前请先阅读注意事项,室温尽量控制在26°C以下)

#### 裂解样本

#### 1. 实验准备:

第一次使用前请先在漂洗液RW瓶加入指定量无水乙醇(试用装中漂洗液RW已加入乙醇,可直接使用)。取1ml植物裂解液RA至离心管内,再加入4%  $\beta$ -巯基乙醇(1ml RA加 $40\mu l$   $\beta$ -巯基乙醇)颠倒混匀后 $65^{\circ}$ C水浴中预热,多个样品按照比例放大。

注: 非多酚多糖样本可以少加甚至不加β-巯基乙醇。

- 2. 液氮中研磨新鲜或-80℃冷冻的材料至细粉,立即转移100mg-200mg细粉(水分少的样品如叶片种子等可加100mg,水分多的样品如果实可多加至500mg)加至预热的植物裂解液RA(已加有β-巯基乙醇)中。立即剧烈涡旋30-60秒或者用吸头吹打混匀裂解得到满意匀浆结果。
- 3. 放回65°C水浴5-10分钟,期间颠倒1-2次。
- 4. 裂解物取出后加入200µl氯仿,剧烈涡旋30秒,13,000rpm离心2分钟(若裂解物在水浴后直接13,000rpm离心10分钟,上清干净无杂物,可以选择不添加氯仿)。将上清转移至一个新的1.5ml离心管中。

## gDNA纯化

- 1. 向上清中加入0.4倍体积的无水乙醇,振荡5秒混匀(加入乙醇后,如果出现明显的 沉淀,可减少至0.3倍体积的无水乙醇;果实等含水量高的样品,尝试添加0.5-0.6倍 体积的无水乙醇以提高产量)。
- 将混合物(每次小于720μl,分多次加入)加入一个gDNA清除柱中(清除柱放入收集管中),13,000rpm离心1分钟,弃掉废液,保留收集管。确保离心后液体全部滤过去,膜上没有残留,如有必要,可以加大离心力和离心时间。
- 3. 将gDNA清除柱放入一个干净2ml离心管内,在gDNA清除柱内加入500μl RNA回收液 RR,13,000rpm离心30秒,收集滤液备用(RNA在滤液中)。
- 4.  $gDNA清除柱放回到步骤2中的收集管中,加700<math>\mu$ l去蛋白液CR,室温放置1分钟, 13,000rpm 离心30秒,弃掉废液。
- 5. 加入 500ul 漂洗液 RW(请先检查是否已加入无水乙醇!), 13,000rpm 离心 30 秒,弃 掉废液。加入 500ul漂洗液 RW,重复一遍。
- 6 将gDNA清除柱放回空收集管中,13,000rpm离心2分钟,尽量除去漂洗液,以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。



7. 取出gDNA清除柱,放入一个1.5ml离心管中,根据预期DNA产量在吸附膜的中间 部位加50-100μl 缓冲液TE(事先在65°C水浴加热可提高产量),室温放置1分钟,13,000rpm 离心1分钟,即获得DNA。

#### RNA纯化

- 1. 计算gDNA纯化步骤3收集的滤液体积,向滤液中加入0.5倍体积的无水乙醇,此时可能出现沉淀,但是不影响提取过程,立即吹打混匀,不要离心。
- 2. 立刻将混合物(每次小于720µl,分多次加入)加入一个RNA吸附柱中(吸附柱放入收集管中),13,000rpm离心1分钟,弃掉废液。确保离心后液体全部滤过去,膜上没有残留,如有必要,可以加大离心力和离心时间。
- 3. 加700µl去蛋白液CR,室温放置1分钟,13,000rpm 离心30秒,弃掉废液。
- 4. 加入500μl漂洗液RW(请先检查是否已加入无水乙醇!),13,000rpm 离心 30秒,弃 掉废液。加入500μl漂洗液RW,重复一遍。
- 5. 将RNA吸附柱放回空收集管中,13,000rpm离心2分钟,尽量除去漂洗液,以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
- 6. 取出RNA吸附柱,放入一个RNase-free 1.5ml离心管中,根据预期RNA产量在吸附膜的中间部位加50-100μl RNase-free ddH2O(事先在65°C水浴加热可提高产量),室温放置1分钟,13,000rpm 离心1分钟,即获得RNA。

# DNA酶柱上消化(选做,详细参照ZP430 DNase I柱上消化试剂盒)

- 1. 按照操作步骤,直到做完RNA纯化步骤2。
- 2. 取45μl DNase I buffer和5μl RNase free DNase I离心管轻轻吹打混匀成工作液(处理多个离心柱子要按照比例放大制备工作液)。注:如果残留DNA过多导致消化不完全,可按比例加大使用酶量来提高消化效果(如90μl DNase I buffer和10μl RNase free DNasel)。
- 3. 向RNA吸附柱中加入350ul去蛋白液CR, 12,000rpm离心30秒, 弃废液,将吸附柱放回收集管中。
- 有RNA吸附柱中央加入50μl的DNasel工作液,室温(20-30℃)放置15分钟。注意直接将工作液滴在膜中央上,不要让工作液滴在Q型圈或是离心柱管壁上。
- 5. 向RNA吸附柱中加入350μl去蛋白液CR, 12,000rpm离心30-60 秒弃废液,将吸附柱放回收集管中。
- 6. 柱上消化后,继续接着步骤10---加入500µl漂洗液RW,直至完成。