

# R6827 Plant RNA Kit

## 植物 RNA 提取 常见问题及排查方法

1. 由于植物部分或新鲜程度可直接影响终产物 RNA 质量，请尽量使用新鲜、幼嫩的植物进行提取。如为冻存样品，请尽量使用冻存时间较短，或保存温度较低（-50℃以下）保存的样品，以确保提取前样本内 RNA 的状态尽可能完好。
2. 实验前，RNA Wash Buffer II 必须按照说明书加入【无水乙醇】稀释备用。请开盖闻气味确认是否已加入醇类稀释。可使用 DEPC water 与新开一瓶无水乙醇配置一个 80%乙醇替代 RNA Wash Buffer II 尝试实验，可排除由于稀释错误导致的提取失败。
3. 本试剂盒含有两个方案，标准方案适用于杂质含量不高的植物叶片（如经济作物）或模式生物植物组织的提取，或有更高产量要求的客户可尝试使用，方案偏向获得高产量。困难样品方案适用于根茎果实，糖酚或其他杂质含量较高的样品，或使用标准方案认为纯度不佳的客户可尝试困难样品方案，该方案偏向获得高纯度。由于植物杂质较为复杂，当使用任一方案获得不理想结果时，建议使用另一方案进行尝试。
4.  $\beta$ -巯基乙醇与裂解液的混合可进一步防止 RNA 在提取中发生降解，保证最终提取得率，如有条件建议加入。
5. 如下游需进行荧光定量实验或其他对 DNA 污染敏感的实验，建议购买 DNase Set（货号 E1091）在提取过程中进行快速膜上 DNA 消化，产物无需灭活或再次纯化，可直接应用于反转录及荧光定量实验检测。
6. 若出现堵柱子的情况，应注意以下几点：
  - （1）注意样品用量，不宜使用超过 100mg 的植物样品量，过多的样品量不仅不会提高产量，反而可能会导致裂解不充分，造成堵柱子；
  - （2）在标准方案内，加入乙醇后应注意是否出现白色絮状沉淀，如出现应尽量吹打以免影响核酸的结合；
  - （3）在转移过柱时，如有堵柱情况发生，请加大离心速度或延长离心时间让液体全部通过柱子，并在下次提取时减少样品用量；
  - （4）裂解不充分：如无法减少样品用量，则需按比例增加过 HiBind<sup>®</sup> RNA Mini Column 前试剂的用量，确保样品充分裂解。
7. 为了确保浓度，向柱子中加入 50 $\mu$ l DEPC water，室温静置 1min，离心 1min，把洗脱产物重新吸回柱子中，室温静置 1min，再次离心洗脱。可在不增加洗脱体积的同时确保产物浓度。
8. 除说明书注明离心温度的情况下才使用温控，请勿在未注明离心温度或注明常温条件时使用低温温控离心，如室温过低请把离心机调整至 15~25℃，以此保证 RNA 在最适温度下结合上柱。

### 如何排除是否由检测方法引起问题?

1. 请使用试剂盒内自带 DEPC 水进行机器调零;
2. 尝试加大电泳上样量检测是否存在 RNA 条带, 可判断到底是浓度低还是没有被提取成功。

### RNA 降解原因和排查方法

1. RNA 样品研磨后需在液氮完全挥发前马上混入裂解液, 延缓 RNA 的降解。如单次手工操作多个样品的研磨, 可在离心管内先分装好裂解液, 液氮研磨后马上转入离心管震荡混匀再进行下一个样品的研磨。
2. 特别需要注意的是: 电泳槽如果是跟 DNA 混用, 跑胶过程中的降解也是非常常见的。因为 DNA 提取时经常需要使用 RNase, RNase 很难完全失活, 如果 DNA 和 RNA 电泳槽混用, 跑胶时容易被 RNase 污染导致 RNA 产物降解。注意电泳槽 DNA 和 RNA 不要混用。
3. 除了样品以外, 也应注意在提取过程中配制溶液用的水是否除酶, 枪头, 离心管是否无酶。这些都是引起 RNA 降解的原因。注意使用无酶耗材 (可购买或使用 DEPC Water 处理后灭菌), 单纯的高压灭菌不足以去除 RNase。

#### 电泳槽清理办法:

用 1%SDS 把电泳槽, 制胶梳子, 卡槽浸泡过夜, 第二天用大量清水洗干净, 后更换新的电泳液进行电泳。如实在没有条件, 也需要把电泳的梳子, 制胶槽清洗干净, 将电泳液换新。Loading Buffer 务必不能与 DNA 混用, 否则 RNA 极易在电泳过程中降解。

如按照上述步骤仍无法排查问题, 请提供单位名称及试剂盒条形码 (即盒外标签 Lot 开头数字字母组合) 核验正品货源, 添加技术支持 QQ: 800848200 获取更多信息。