版本号:250717

EASYspin Plus Almighty Plant/Fungi RNA Kit
EASYspin Plus 全能型植物/真菌 RNA 快速提取试剂盒

目录号：RN73

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	50 次(RN7301)
裂解液 APF	室温	50 ml
裂解液 FEA	室温	30 ml
PlantAid	室温	3 ml
去蛋白液 RW1	室温	35 ml
漂洗液 RW	室温	10 ml 第一次使用前按瓶子标签说明加无水乙醇
RNase-free H_2O	室温	5 ml
DNA 清除/RNA 吸附通用柱和收集管	室温	100 套

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项：

1. 运输和储存均在室温下进行。
2. 裂解液 APF 环境温度低时容易析出沉淀或者白色浑浊，使用前需先置于 65°C 水浴重新溶解，恢复澄清后轻轻摇晃充分混匀后使用。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ 产品介绍：

本品为全能型植物/真菌提取试剂盒，适用于快速提取普通模式植物等（棉花、番茄、苜蓿、小麦、水稻、玉米、拟南芥、烟草、大豆、油菜、大麦、杨树、无花果等)、多糖多酚植物（松针、玉米籽粒、水稻种子、花生种子、油菜种子等种子、玫瑰、月季、牡丹等花卉、人参、葛根、虎杖、菖蒲等中草药、凤梨、西瓜、苹果、火龙果、桃、梨、榴莲、香蕉、芒果、红薯等果实等）和真菌（蘑菇、灵芝、香菇、平菇、桃褐腐、根瘤菌等）的 RNA。

❖ **产品特点：**

1. 完全不使用有毒的苯酚/氯仿/beta 巯基乙醇等毒性试剂。
2. 简捷，单个样品操作一般可在 12 分钟内完成，世界上简单快速的试剂盒。
3. 独家研发成功基因组 DNA 清除/RNA 吸附通用柱技术配合特殊溶液配方可以 1 分钟过滤快速有效清除 gDNA 残留，得到的 RNA 一般不需要 DNase 消化，可直接用于反转录 PCR、荧光定量 PCR 等实验。
4. 试剂盒包括两种裂解液体系，可以提取包括普通植物(用裂解液 FEA)和复杂植物(用裂解液 APF)的 RNA，是适应性广泛的全能型产品，使用 EASYspin 系列植物 RNA 试剂盒发表文章超过 250 篇。详细样品列表请参考公司主页产品介绍或者找我们索取 200 多篇发表文章 PDF 原文。
5. 独特的去杂质配方和漂洗确保得到的高纯度 RNA 无蛋白和杂质残留、OD260/OD280 典型的比值高达 2.1～2.2，一般无显著 DNA 残留，可直接用于下游反转录荧光定量 PCR、高通量测序建库、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、Ploy(A)筛选、体外翻译、RNase 保护分析等试验。

❖ **注意事项**

1. **所有离心步骤均在室温完成，**使用转速可以达到13, 000 rpm的离心机。
2. 自备乙醇，研钵。
3. 裂解液APF和裂解液FEA 和去蛋白液RW1中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，**避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。**
4. 本试剂盒可去除体系中绝大部分的DNA污染，纯化获得的RNA通常无需使用DNase I处理即可用于下游实验操作。不同样本核酸含量相差大，如果下游实验对痕量DNA十分敏感，可以使用DNase I进一步清除DNA污染（艾德莱货号：RN45）。以后提取时购买DNA酶柱上消化试剂盒在提取中去除DNA(艾德莱货号：RN34)前可先索取具体操作说明书。

❖ **操作步骤 I（普通植物样品和真菌）：**

⇨ 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶按照标签说明加入无水乙醇!

⇨ 本操作步骤适合棉花、番茄、苜蓿、小麦、水稻、玉米、拟南芥、烟草、大豆、油菜、大麦、杨树、无花果、平菇、蘑菇等普通植物和真菌样品。

1. 取 550 µl 裂解液 FEA 至 1.5 ml 离心管，加入 55 µl PlantAid 备用。
2. 液氮中研磨适量植物/真菌组织成细粉后，取 50 mg−100 mg 细粉转入上述装有裂解液 FEA（已经加入 PlantAid）的离心管，立即剧烈涡旋震荡 30 sec，使样本与裂解液充分混合裂解完全，13, 000 rpm 离心 5−10 min。
   ▲ 样品处理量可根据具体情况增减，例如果实类如水分多可以适当加大处理量。
   ▲ PlantAid 帮助去除多糖多酚杂质，普通植物如水稻叶片等样品可以省略不加。个别情况如果 RNA 产量浓度低，也可尝试不加 PlantAid，个别特殊样品不加 PlantAid 反而可能提高 RNA 产量浓度。
3. 立即取上清约 500 µl 至 DNA 清除/RNA 吸附通用柱（已放入收集管中，以下简称通用柱）中，13, 000 rpm 离心 30 sec，弃掉通用柱，**保留收集管中的滤液（RNA 在滤液中）**。
   ▲ 上清体积可根据实际情况做出相应调整。
4. 向收集管中加入 0.5 倍滤液体积的无水乙醇（约 250 µl，根据上清实际情况调整），移液器吹打混匀。
   ▲ 若加醇后出现浑浊或有絮状物产生，属正常现象，可将混合液（包括絮状物）都加入通用柱中继续进行后续操作。
5. 立即将上述混合液转移至一个新的通用柱内（已放入收集管中），静置 1 min，13, 000 rpm 离心 30 sec，弃滤液，将通用柱放回收集管。
   ▲ 吸附柱容积为 750 µl，若混合液超过该体积请分多次进行上柱。
6. 向通用柱中加入 700 µl 去蛋白液 RW1，室温放置 1 min，13, 000 rpm 离心 30 sec，弃滤液。
7. 向通用柱中加入 500 µl 漂洗液 RW（使用前请检查是否已加入无水乙醇），13, 000 rpm 离心 15 sec，弃滤液。
8. 重复步骤 7 一遍。
9. 将通用柱放回收集管中，13, 000 rpm 离心 2 min。
   ▲ 空甩作用是尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 将通用柱转移至新的 1.5 ml 离心管中，向吸附柱膜中央悬空滴加 30−50 µl 的 RNase-free ddH_2O，静置 1 min，13, 000 rpm 离心 1 min。
    ▲ 洗脱体积建议不少于 30 µl，体积过小会影响核酸回收效率。
    ▲ 以下步骤都可以帮助提高 RNA 产物浓度：
    RNase-free ddH_2O 于 90°C 预热；
    将第一次洗脱液重新加入吸附柱进行洗脱，两次洗脱可以提高浓度约 10%。
11. 提取的 RNA 可直接用于下游实验或−85°C ~ −65°C 保存。

❖ **操作步骤 II（多糖多酚复杂植物样品和复杂真菌）：**

⇨ 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶按照标签说明加入无水乙醇!

⇨ 本操作步骤适合大多数多糖多酚复杂植物/复杂真菌样品。

1. 取 1 ml 裂解液 APF 至离心管内备用。

   ▲ 如果 APF 气温低有析出或沉淀需先置于 65°C 水浴重新溶解，轻轻混匀后吸取 1 ml 备用）。

2. 液氮中研磨适量植物/真菌组织成细粉后，取 100 mg−200 mg 细粉转入上述装有裂解液 APF 的离心管，立即剧烈涡旋震荡 30−60 sec，或者用吸头吹打混匀裂解直得到满意匀浆结果(或者电动匀浆 30 sec)，可以剪切 DNA，降低粘稠度和提高产量。

   ▲ 样品处理量可根据具体情况增减，例如果实类如水分多可以适当加大处理量。

3. 将裂解物在 65°C 水浴 5−10 min，期间颠倒 1−2 次以帮助裂解，13, 000 rpm 离心 10 min。

4. 转移裂解物上清转到一个新离心管。加入上清体积一半的无水乙醇(0.5 倍体积)，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。

   ▲ 如上清表面有漂浮物，用吸头挑开吸取下面液体即可。

5. 将混合物(每次小于 750 µl，多可以分两次加入)加入 DNA 清除/RNA 吸附通用柱内（通用柱放入收集管中）静置 1 min，13, 000 rpm 离心 2 min，弃掉滤液。

   ▲ 确保离心后液体全部滤过去，膜上没有残留，如有必要可加大离心力和时间。

6. 将上一步通用柱放在一个干净 2 ml 离心管内（不用 RNase free 或者 DEPC 处理，一般干净的新离心管即可。(如手头一时找不到 2 ml 离心管，也可取一套新的通用柱的干净收集管用，保留新通用柱后续要用))，在通用柱内加 500 µl 裂解液 FEA，13, 000 rpm 离心 30 sec，丢弃通用柱，**保留收集管中的滤液（RNA 在滤液中）**。

7. 向滤液中加入 0.5 倍滤液体积的无水乙醇（约 250 µl），移液器吹打混匀。

   ▲ 若加乙醇后出现浑浊或絮状物产生，属正常现象，立即吹打混匀，不要离心。

8. 立即将混合液加入至一个新的 DNA 清除/RNA 吸附通用柱内（通用柱放入收集管中），静置 1 min，13, 000 rpm 离心 30 sec，**弃滤液（RNA 此时吸附在通用柱上，不在滤液内）**，将通用柱放回收集管。

   ▲ 确保离心后液体全部滤过，膜上没有残留，如有必要，可加大离心力和时间。

9. 接操作步骤 I 的 6−11 步骤完成后续操作。