

HiPure HP Plant RNA Mini Kit

难提植物总 RNA 小提试剂盒

本产品适合于从难提取植物样品（果实和种子）中提取高纯度总 RNA。试剂盒结合了两种高效的 RNA 抽提技术，将一步法的 RNA 抽提技术和硅胶柱 RNA 纯化技术结合起来，可最大程度上提高 RNA 的纯度。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern Blot、poly A⁺纯化、核酸保护和体外翻译等实验。

产品组份

产品编号	R4165-01	R4165-02	R4165-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
HiPure RNA Mini Columns	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
DNase I	120 µl	600 µl	5 × 600 µl
DNase Buffer	1 ml	15 ml	60 ml
Buffer PAL	12 ml	60 ml	270 ml
Buffer GXP2*	6 ml	20 ml	100 ml
Buffer BDP	12 ml	60 ml	270 ml
Buffer RV1	10 ml	50 ml	250 ml
Buffer RV2*	5 ml	20 ml	2 × 50 ml
RNase Free Water	1.8 ml	10 ml	30 ml
说明书	1	1	1

版本号：2023-05-12

保存条件

本产品除 DNase I 和 Buffer BDP 外，其它组份可在室温保存 18 个月。DNase I 和 Buffer BDP 低温运输，收到产品后，把 DNase I 保存于-20~8℃，Buffer BDP 保存于 2~8℃。

准备事项

- 在 Buffer RW2 中，加入 4 倍体积的无水乙醇，于室温保存
- 在 Buffer GXP2 中，加入 1.5 倍体积无水乙醇，于室温保存
- (可选) 2-巯基乙醇
- (可选) PVP-40

实验步骤

该方案适合于从各种植物/真菌样品中提取 RNA，特别是复杂难提取的植物样品（如葡萄叶片/茶叶）。

1. **用液氮将植物或真菌磨成粉末，称取 50-100mg 粉末至 2.0ml 离心管中。立即加入 0.7ml Buffer PAL/2-巯基乙醇至样品中，剧烈涡旋打散样品，65°C 放置 5 分钟。**

处理易研磨的植物样品(水果果实/鲜嫩叶片等)，转移 100~150mg 样品至研钵中，加入 1ml Buffer PAL/2-巯基乙醇至研钵中，立即进行充分的研磨，然后转移 0.7ml 匀浆液至 2.0ml 离心管中，65°C 放置 5 分钟，按第 3 步进行操作。

(可选)Buffer PAL 使用前，加入 2-巯基乙醇至 1%(V/V)，难提样品可以提高至 5%。处理复杂的多酚类样品，使用前还可以加入 PVP-40 至 Buffer PAL，终浓度为 2%(W/V)，以提升裂解液的抗氧化能力。大部分样品不需要加入 PVP-40 和巯基乙醇。由于 2-巯基乙醇和 PVP-40 不稳定，添加后的 Buffer PAL 室温放置时间不要超过 1 周。

若下游应用对 DNA 污染极为敏感，建议样品用量不要超过 50mg。大量 DNA 会造成 DNase I 消化不完全。

2. **加入 700µl Buffer BDP 至裂解液中，高速涡旋 15~20 秒。室温下，13,000 ×g 离心 5 分钟，按总 RNA 提取流程或 RNA(含 miRNA)提取流程进行操作。**

富含多酚或淀粉的组织样品，可在第 3 步前，增加一步酚氯仿（货号 MC010）进行等体积抽提去除多糖和其它杂质。Buffer BDP 为氯仿代替物，主要成分为更低毒性的溴氯丙烷。皮肤接触时，立即脱去污染衣着，用大量流动清水冲洗，就医。

Total RNA 提取流程（不含 miRNA）

3. **转移~500µl 上清液至新离心管中，加入 1.5 倍体积 Buffer GXP2，涡旋 15 秒。**

加入 Buffer GXP2 后有少量的絮状沉淀产生，用移液枪反复吸打几次，尽量打散絮状物。若产生大量的絮状物，可能是因为样品含多糖类物质，重新提取时，样品量要减

倍或更多以避免堵塞柱子，提高得率。

5. 把 HiPure RNA Mini Column 装在 2ml 收集管中。转移一半体积混合液(含沉淀)至柱子中。12,000 × g 离心 30~60 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中，转移余下的混合液(含沉淀)至柱子。12,000 × g 离心 30~60 秒。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 400µl Buffer RW1 至柱子中，12,000 × g 离心 1 分钟。倒弃滤液，把柱子装回收集管。
8. 按下表在 1.5ml 离心管中，配制 DNase I 反应液，混匀。

成分	用量（每人份）
DNase I	10 µl
DNase Buffer	90 µl

9. 把 100 µl DNase I 反应液全部滴加到柱子的膜中央，盖上盖子，把柱子反放于桌面，让 DNase 反应液尽量覆盖于吸附膜的表面，室温静置 20~30 分钟消化去除 DNA。
10. 加入 500µl Buffer RW1 至柱子中，室温放置 2 分钟，12,000 × g 离心 30~60 秒。
11. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500µl Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱子中，12,000 × g 离心 30~60 秒。
12. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500µl Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱子中，12,000 × g 离心 30~60 秒。
13. 倒弃流出液，把柱子装回收集管。12,000 × g 离心 2 分钟。
14. 将柱子转移至 1.5ml 离心管，加入 30~100µl RNase Free Water 至柱子膜中央。室温静置 2 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。
15. 弃去柱子，把 RNA 保存于-80°C。

Total RNA (miRNA)提取流程

3. 转移~500µl 上清液至新的离心管中，加入等倍体积的异丙醇，涡旋 15 秒，静置 10 分钟。

加入异丙醇后有少量絮状沉淀产生，用移液枪反复吸打几次，尽量打散絮状物。若产生大量的絮状物，可能是因为样品含多糖类物质，重新提取时，样品量要减倍或更多以避免堵塞柱子，提高得率。

4. 把 HiPure RNA Mini Column 装在 2ml 收集管中。转移一半体积的混合液至柱子中。12,000 × g 离心 30~60 秒。
5. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。转移余下混合液至柱子中。12,000 × g 离心 30~60 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 400µl Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱子中，12,000 × g 离心 2 分钟。倒弃滤液，把柱子装回收集管。
7. 按下表在 1.5ml 离心管中，配制 DNase I 反应液，混匀。

成分	用量
DNase I	10 µl
DNase Buffer	90 µl

8. 把 100 µl DNase I 反应液全部滴加到柱子的膜中央，盖上盖子，把柱子反放于桌面，让 DNase 反应液尽量覆盖于吸附膜的表面，室温静置 20~30 分钟消化去除 DNA。
9. 加入 600µl Buffer GXP2 柱子中，12,000 × g 离心 30~60 秒。
10. 取下柱子，用移液枪吸打滤液 2~3 次，然后再把滤液全部转移至柱子中，并套回收集管。12,000 × g 离心 30~60 秒。
11. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500µl Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱子中，12,000 × g 离心 30~60 秒。
12. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500µl Buffer RW2(已用乙醇稀释)至柱子中，12,000 × g 离心 30~60 秒。
13. 倒弃流出液，把柱子装回收集管。12,000 × g 离心 2 分钟。
14. 将柱子转移至 1.5ml 离心管，加入 30~100µl RNase Free Water 至柱子膜中央。室温静置 2 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。
15. 弃去柱子，把 RNA 保存于-80°C。