

## 植物 microRNA 快速提取试剂盒

目录号：EN-410

### ❖ 适用范围：

适用于快速提取植物组织细胞包括microRNA的总RNA。

### ❖ 试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	50 次(R410-50)
裂解液 ARL	室温	50 ml
糖酚去除剂 PAD	室温	5 ml
Wash Solution 1	室温	12 ml 第一次使用前加入 28ml 无水乙醇
Wash Solution 2/3	室温	10 ml 第一次使用前加入 42ml 无水乙醇
RNase-free H <sub>2</sub> O	室温	10 ml
gDNA 过滤器和收集管	室温	50 套
RNA 吸附柱和收集管	室温	50 套

试剂盒在室温(15°C-25°C)储存 12 个月不影响使用效果。

### ❖ 产品特点：

**无毒：免氯仿、免 β-巯基乙醇！**

**高效：提取全过程仅需 20 分钟！**

**高质：28s/18s=2:1，OD260/280=2.0~2.2！**

**亮点：gDNA 过滤器，1 分钟高效滤除基因组 DNA！**

### ❖ 实验前准备：

自备无水乙醇、β-巯基乙醇（可选）。

研钵洗净、烘干。如果实验室有研磨仪的话，只需要准备 2.0ml 圆底离心管和 5mm 钢珠。

1.5ml 无酶离心管、无酶蓝吸头、无酶黄吸头、无酶白吸头。

## ❖ 操作步骤：（所有的离心步骤均在室温完成）

### 提示：

- ⇒ 第一次使用前请先在 Wash Solution 1 和 Wash Solution 2/3 瓶加入指定量无水乙醇！
- ⇒ 对于 RNA 酶或者多酚特别丰富植物组织：操作前在裂解液 ARL 中加入 $\beta$ -巯基乙醇至终浓度 1%，如 1 ml ARL 中加入 10 $\mu$ l  $\beta$ -巯基乙醇。此裂解液最好现用现配。配好的 ARL 4 $^{\circ}$ C 可放置一个月。

### 1. 直接研磨法（推荐）：

a. 新鲜植物组织称重后取 100mg 迅速剪成小块放入研钵（冰冻保存或者液氮保存样品可直接称重后取 100mg 放入研钵），加入 10 体积（1ml）ARL 和 1 体积（100 $\mu$ l）糖酚去除剂 PAD 室温下充分研磨成匀浆，注意应该迅速研磨让组织和裂解液 RLT 立刻充分接触以抑制 RNA 酶活性。

**注：糖酚去除剂 PAD 是提取多糖多酚次级代谢产物色素含量丰富的困难样品不可缺少成分。提取普通植物组织可以不加糖酚去除剂 PAD，RNA 产量可能会提高一些。**

b. 将裂解物转入离心管，剧烈摇晃振荡 15 秒，13, 000rpm 离心 5-10 分钟，沉淀不能裂解的碎片和结合有多糖多酚的糖酚去除剂 PAD。

c. 取 450 $\mu$ l 裂解物上清（不要超过基因组 DNA 过滤器能力，如残留基因组 DNA 较多，可适当减少取上清量）将裂解物上清加到 gDNA 过滤器上（过滤器放在收集管内）。

d. 立刻接操作步骤项下 3。

### 2. 液氮研磨法：

a. 取 500 $\mu$ l 裂解液 ARL，转入 1.5ml 离心管中，加 50 $\mu$ l 糖酚去除剂 PAD 混匀备用。

b. 液氮中研磨适量植物组织成细粉后，取 50mg 细粉转入上述装有 ARL 和糖酚去除剂 PAD 的离心管，立即用手剧烈振荡 20 秒，充分裂解。

在 56 $^{\circ}$ C 温育 1-3 分钟有助于裂解植物，但是淀粉含量高的植物不能温育，因为提高

的温度可能导致淀粉膨胀。

c. 用带钝针头的一次性 1 ml(配 0.9mm 针头) 注射器抽打裂解物 10 次或直到得到满意匀浆结果(或者电动匀浆 30 秒),可以剪切 DNA,降低粘稠度和提高产量。

d. 将裂解物 13, 000rpm 离心 5-10 分钟,沉淀不能裂解的碎片和结合有多糖多酚的糖酚去除剂 PAD。

e. 取裂解物上清(不要超过基因组 DNA 过滤器能力,如残留基因组 DNA 较多,可适当减少取上清量)将裂解物上清加到 DNA 过滤器上(过滤器放在收集管内)。

f. 立刻接**操作步骤**项下 3。

3. 立即 13,000 rpm 离心 60 秒, 收集滤液 (RNA 在滤液中)。
4. 用微量移液器较精确估计滤过液体积 (450 $\mu$ l 左右, 滤过时候损失体积应该减去), 加入 1.25 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。
5. 立刻将混合物(每次小于 700 $\mu$ l,多可以分两次加入)加入一个 RNA 吸附柱中, (吸附柱放入收集管中) 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
6. 加 700 $\mu$ l Wash Solution 1 (请先检查是否已加入无水乙醇!), 13,000rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
7. 加入 500 $\mu$ l Wash Solution 2/3 (请先检查是否已加入无水乙醇!), 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。加入 500 $\mu$ l Wash Solution 2/3, 重复一遍。
8. 将 RNA 吸附柱放回空收集管中, 13,000 rpm 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。
9. 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 30-50 $\mu$ l RNase free water, 室温放置 1 分钟, 13,000 rpm 离心 1 分钟, 洗脱 RNA。