



北京博凌科为生物科技有限公司

Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.

Tel: 010-57158602/52872342/80773165 (Fax)

[Http://www.blkwbio.com/](http://www.blkwbio.com/)

E-mail: blkwbio@blkwbio.com

- ◆ **HFi 植物RNA快速提取试剂盒**
 - ◆ **目录号 1109**
 - ◆ **使用手册**
 - ◆ **实验室使用，仅用于体外**
-

HiFi 植物 RNA 快速提取试剂盒

HiFi Plant RNA Kit

目录号: 1109

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	20 次(110901)	50 次(110902)
裂解液 RLT	室温	20 ml	50 ml
去蛋白液 RW1	室温	15 ml	40 ml
漂洗液 RW	室温	5 ml <i>第一次使用前按说明加指定量乙醇</i>	10 ml
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml	10 ml
PLANTaid	室温或 4℃	2 ml	5 ml
RNase-free 吸附柱 RA 和收集管	室温	20 套	50 套

本试剂盒在室温储存 6 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 不合适的储存于低温（4℃或者-20℃）会造成溶液沉淀，影响使用效果，因此运输和储存均在室温下（15℃-25℃）进行。
2. 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:

独特的裂解液迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶，植物 RNA 助提剂 PLANTaid 帮助结合多糖多酚并通过离心去除，然后用乙醇调节结合条件后，RNA 在高离子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—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，最后低盐的 RNase free H₂O 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。

❖ 产品特点:

1. 完全不使用有毒的苯酚，氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 简捷，单个样品操作一般可在 25 分钟内完成，世界上最简单快速的试剂盒。
3. 独有的植物 RNA 助提剂 PlantAid 可以有效结合多糖多酚，提高清除效果。
4. 适应性极其广泛，可以提取包括棉花、松针、冬青树叶、葡萄叶片、等 100 多种国内外试剂盒提取失败的样品。详细样品列表请参考公司主页产品介绍。
5. 多次柱漂洗确保高纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 典型的比值达 1.9~2.2，基本无 DNA 残留，可用于 RT-PCR，Northern-blot 和各种实验。

❖ 注意事项

1. **所有的离心步骤均在室温完成**，使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机。
2. 需要自备乙醇，研钵(可选)。
3. 裂解液 RLT 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. 植物组织裂解是否充分直接影响到 RNA 提取的质量和产量，本试剂盒中提供的裂解液 RLT，主要成分为异硫氰酸胍，适用于大多数植物组织的裂解，但个别情况有些植物组织（例如玉米的乳白色胚乳）或丝状真菌，由于次级代谢产物较特殊，异硫氰酸胍可能使样品产生固化，导致 RNA 无法提取，遇到此种情况可以向我们订购另一种裂解液 RLC，将解决该问题。

5. 关于DNA 的微量残留：

一般说来任何总 RNA 提取试剂在提取过程中无法完全避免 DNA 的微量残留，本公司的 HiFi 系列 RNA 提取产品，由于采取了本公司独特的缓冲体系和选择了特殊吸附能力的吸附膜已经清除了绝大部分的 DNA 残留，在大多数 RT-PCR 扩增过程中极其微量的 DNA 残留影响不是很大，如果要进行严格的 mRNA 表达量分析如荧光定量 PCR，我们建议在模板和引物的选择时：

- 1) 选用跨内含子的引物，以穿过mRNA中的连接区，这样DNA就不能作为模板参与扩增反应。
- 2) 选择基因组DNA和cDNA上扩增的产物大小不一样的引物对。
- 3) 将RNA提取物用RNase-free的DNase I 处理。本试剂盒还可以用于DNase I处理后的RNA清洁(cleanup)，请联系我们索取具体操作说明书。
- 4) 在步骤去蛋白液RW1漂洗前，直接在吸附柱RA上进行DNase I柱上消化处理。购买DNA酶柱上消化试剂盒(货号：1134)前可先索取具体操作说明书。

6. 关于复杂植物样品提取残留较多DNA或者产量较低的情况：

部分较复杂的植物样品提取时，可能残留较多DNA，可以尝试本公司的1138 HiFi Ex植物RNA提取试剂盒。1138在1109 HiFi植物RNA提取试剂盒基础上，又独家研发成功基因组DNA清除柱技术可以有效清除DNA残留，在大多数情况下，可以将DNA残留清除到紫外下观测不可见。清除DNA减少竞争吸附硅胶膜的结果，还可能提高产量。同时1138配有新研发的裂解液CLB选项，也可以提高产量或用于提取某些特别复杂样品。网上可下载说明书或联系我们索取说明书。

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

提示：

⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶加入指定量无水乙醇！

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）RLT 和 1 体积（100 μ l）PLANTaid 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：PLANTaid 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 PLANTaid，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 PLANTaid。

c. 取 **480 μ l 裂解物上清（在不超过 RNA 吸附柱能力的情况下可以取更多或者全部上清，这样可以提高产量）** 转到一个新离心管。加入上清体积一半的无水乙醇 (**0.5 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。

d. 立刻接**操作步骤**的步骤 3。

2. 液氮研磨法（提取复杂，易降解样品时推荐此法）：

a. 取 500 μ l 裂解液 RLT，转入 1.5ml 离心管中，加入 50 μ l PLANTaid 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 RLT 和 PLANTaid 的离心管，立即用手剧烈振荡 20 秒，充分裂解。

c. 用吸头吹打混匀帮助裂解或者剧烈涡旋震荡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 13,000 rpm 离心 5-10 分钟，沉淀不能裂解的碎片和结合有多糖多酚的 PLANTaid。

e. 取裂解物上清（在不超过 RNA 吸附柱能力的情况下可以取更多的上清，这样

可以提高产量) 转到一个新离心管。加入上清体积一半的无水乙醇(0.5 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。

f. 立刻接**操作步骤**的步骤 3。

注意: 以上液氮研磨法用户可以根据需要加倍处理, 可以提高产量。也就是使用 **1ml 的裂解液 RLT 和 100 μ l PLANTaid 和 100mg 的样品。**

3. 将混合物(每次小于 720 μ l, 多可以分两次加入)加入一个吸附柱 RA 中, (吸附柱放入收集管中) 13,000 rpm 离心 2 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。

4. 加 700 μ l 去蛋白液 RW1, 室温放置 1 分钟, 13,000rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
5. 加入 500 μ l 漂洗液 RW (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 μ l 漂洗液 RW, 重复一遍。
6. 将吸附柱 RA 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。
7. 取出吸附柱 RA, 放入一个 RNase free 离心管中, 根据预期 RNA 产量在吸附膜的中间部位加 30-50 μ l RNase free water(事先在 70-90 $^{\circ}$ C 水浴中加热可提高产量), 室温放置 1 分钟, 12,000 rpm 离心 1 分钟。
8. 如果预期 RNA 产量>30 μ g, 加 30-50 μ l RNase free water 重复步骤 7, 合并两次洗液, 或者使用第一次的洗脱液加回到吸附柱重复步骤一遍(如果需要 RNA 浓度高)。

洗脱两遍的 RNA 洗脱液 RNA 浓度高, 分两次洗脱合并洗脱液的 RNA 产量比前者高 15-30%, 但是浓度要低, 用户根据需要选择。