

## R6727 Plant miRNA Kit

### 简易中文步骤

√实验前请按说明书正确配制 RNA Wash Buffer II

➤ 使用【无水乙醇】对 RNA Wash Buffer II 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
R6727-00	8mL
R6727-01	80mL
R6727-02	160mL (每瓶)

#### 提取步骤:

实验前，每份样品按照下表配制裂解液混合液:

组分	体积
XD Binding Buffer	300μl
MCL Lysis Buffer	650μl
无水乙醇	50μl
β-巯基乙醇	10μl

1. 将 50-100mg 新鲜植物样品，用液氮研磨后加入 700μl 裂解液混合液；
2. 最大速度涡旋彻底混匀 30s，在 55°C 孵育 3min，室温下，12,000xg 离心 5min；
3. 将 gDNA Removal Column 套入到 2mL 收集管中，转移上清液至柱子中，室温下 12,000xg 离心 2min，弃柱子，将过柱后的裂解液转移到新的 2mL 离心管中；
4. 估计滤液体积，并加入 1.1 倍滤液体积的无水乙醇，涡旋混匀 20s；
5. 将 MicroElute RNA Column 套入到 2mL 收集管中，转移步骤 4 中 750μl 混合液至柱子中，12,000xg 离心 1min，弃滤液；
6. 重复步骤 5，直至将步骤 4 中的所有混合液转移过柱；
7. 将 MicroElute RNA Column 套回到 2mL 收集管中，加入 500μl 无水乙醇，12,000xg 离心 1min，弃滤液；
8. 将 MicroElute RNA Column 套回到 2mL 收集管中，加入 500μl XD Binding Buffer，12,000xg 离心 1min，弃滤液；
9. 将 MicroElute RNA Column 套回到 2mL 收集管中，加入 750μl RNA Wash Buffer II 至柱子中，12,000xg 离心 1min，弃滤液；  
 Note: RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。
10. 重复步骤 9，再次加入 RNA Wash Buffer 洗涤；
11. 将 MicroElute RNA Column 套回到 2mL 收集管中，最大速度 (≥12,000xg) 空

柱子离心 2min 干燥，弃收集管；

Note: 此步骤干燥柱子基质至关重要，否则残留的乙醇可能影响下游实验。

12. 将 MicroElute RNA Column 套入到新的 1.5mL 离心管中，加入 30-50 $\mu$ l DEPC water, 室温静置 5min, 最大速度 ( $\geq 12,000xg$ ) 离心 1min 洗脱, 将 RNA 保存于-70 $^{\circ}$ C 中。

Note: 确保将 DEPC water 加入到柱子中心基质中。

以下任意步骤都可用于帮助提高 RNA 产量。

- 在洗脱前将 DEPC water 预热至 70 $^{\circ}$ C。
- 将孵育时间延长至 5-10min。
- 增加洗脱体积。
- 用新的 DEPC water 重复洗脱步骤（可能会提高产量，但是会降低浓度）。
- 使用第一次洗脱的洗脱液重复洗脱步骤（可能会在保持洗脱体积的同时增加产率）。

中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准