

R6827 Plant RNA Kit

简易中文步骤

√实验前请按说明书正确稀释 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
R6827-00	8mL
R6827-01	48mL
R6827-02	48mL (每瓶)

- 每 1mL RB Buffer 需要加入 20 μ l β -巯基乙醇，混匀后可在室温下放置一个月。
- 困难提取方案，每 1mL RCL Buffer 中加入 20 μ l β -巯基乙醇，混匀后可在室温下放置一个月。

E.Z.N.A.[™] Plant RNA Kit Protocol I (Standard Protocol)

1. 植物叶片经液氮研磨后，收集 ≤ 100 mg 植物样品至离心管，加入 500 μ l RB Buffer/10 μ l β -巯基乙醇，马上涡旋混匀。
2. 将 gDNA Filter 过滤柱套入 2ml 收集管中，转移混合液至 gDNA Filter 过滤柱，室温 14,000xg 离心 5min。
3. 转移滤液到新的 1.5mL 离心管，加入 0.5 倍体积的无水乙醇，高速涡旋 20s 混匀，如有沉淀析出，用枪吸打 10-15 次；
4. 将 HiBind[®] RNA Mini 结合柱套入 2ml 收集管中，转移 700 μ l 步骤 3 的混合液至 HiBind[®] RNA Mini 结合柱中，室温 12,000xg 离心 1min，弃滤液；
5. 重复步骤 4 直至所有混合液转移过柱；
6. 将 HiBind[®] RNA Mini 结合柱套入同一 2ml 收集管中，加 400 μ l RWF Wash Buffer，室温 10,000xg 离心 30s，弃滤液；
7. 将 HiBind[®] RNA Mini 结合柱套入同一 2ml 收集管中，加 500 μ l RNA Wash Buffer II (提前使用无水乙醇稀释)，室温 10,000xg 离心 30s，弃滤液；
8. 重复步骤 7；
9. 将 HiBind[®] RNA Mini 结合柱套入同一 2ml 收集管中，室温最大速度离心 2min，甩干 HiBind[®] RNA Mini 结合柱基质；
10. 将 HiBind[®] RNA Mini 结合柱套在一个新的 1.5ml 离心管中，取 50-100 μ l DEPC Water，准确添加在 HiBind[®] RNA Mini 结合柱膜中央，常温放置 2min，10,000 xg 室温离心 1min，洗脱 RNA；

Note: 以下操作可能帮助提高 RNA 产量。

- 使用前将 DEPC Water 65 $^{\circ}$ C 预热
- 室温静置 5min；

- 增加洗脱液的体积;
- 用新的 DEPC Water 进行二次洗脱 (可增加产量, 但会导致浓度降低)
- 将第一次洗脱用的 DEPC Water 重新加回到柱子中进行二次洗脱 (可增加洗脱浓度但不会提高很多产量)

E.Z.N.A.™ Plant RNA Protocol II (for difficult samples)

1. 植物叶片经液氮研磨后, 收集 ≤ 100mg 植物样品至离心管, 加入 500μl RCL Buffer/10μl β-巯基乙醇混合液, 马上涡旋混匀。

注意: 每 1ml Buffer RCL 添加 20μl β-巯基乙醇, 需预先混合

2. 55°C水浴 1-3 分钟, 10,000×g 室温离心 5 分钟。
3. 将 gDNA Filter 过滤柱套入 2ml 收集管中, 转移上清液至 gDNA Filter 过滤柱, 室温 14,000×g 离心 2 分钟。
4. 往滤液加入等体积的 RCB Buffer, 涡旋混匀 20s。
5. 将 HiBind® RNA Mini 结合柱套入 2ml 收集管中, 转移一半混合液 (< 700μl) 至 HiBind® RNA Mini 结合柱上, 12,000×g 室温离心 1min, 弃掉滤液;
6. 重复步骤 5, 直至将所有混合液转移过柱;
7. 将 HiBind® RNA Mini 结合柱套入同一 2ml 收集管中, 往 HiBind® RNA Mini 结合柱加入 400μl RWF Wash Buffer, 10,000×g 室温离心 30s, 弃掉滤液;
8. 将 HiBind® RNA Mini 结合柱套入同一 2ml 收集管中, 往 HiBind® RNA Mini 结合柱加入 500μl RNA Wash Buffer II (提前使用无水乙醇稀释), 10,000×g 室温离心 30s, 弃掉滤液;
9. 重复步骤 8。
10. 将 HiBind® RNA Mini 结合柱套入同一 2ml 收集管中, 室温 10,000×g 离心 2min, 甩干 HiBind® RNA Mini 结合柱基质;
11. 将 HiBind® RNA Mini 结合柱套在一个新的 1.5ml 离心管中, 取 50-100μl DEPC 水, 准确添加在 HiBind® RNA Mini 结合柱膜中央, 常温放置 2min, 10,000×g 室温离心 1min, 洗脱 RNA。

Note: 以下操作可能帮助提高 RNA 产量。

- 使用前将 DEPC Water 65°C预热
- 室温静置 5min;
- 增加洗脱液的体积;
- 用新的 DEPC Water 进行二次洗脱 (可增加产量, 但会导致浓度降低)
- 将第一次洗脱用的 DEPC Water 重新加回到柱子中进行二次洗脱 (可增加洗脱浓度但不会提高很多产量)

中文翻译仅供辅助阅读, 详情请以英文说明书为准