

M5 HiPer Universal Plant RNeasy Mini Kit

超强通用型植物 RNA 提取试剂盒

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 HiPer Universal Plant RNeasy Mini Kit	50T	MF1345-01

【储存条件】 室温。所有溶液应该是澄清的，温度低时溶液可能形成沉淀，可在 37°C 水浴加热几分钟，恢复澄清后再使用。

【产品简介】

本品适用于快速提取简单植物和普通多糖多酚植物 RNA。采用独家研发基因组 DNA 清除/RNA 吸附通用柱技术，配合特殊试剂配方。一般不需 DNA 酶消化，有效清除 gDNA 残留，得到的 RNA 无显著 DNA 残留，可直接用于下游反转录荧光定量 PCR 或者高通量测序建库等试验。**本产品也可以用来提取丝状真菌和复杂真菌的 RNA，甚至昆虫 RNA，操作方法同植物样本。**

【产品特点】

1. 不使用有毒的苯酚、氯仿和 beta 巯基乙醇等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 简捷，单个样品操作一般可在 12 分钟内完成。
3. 基因组 DNA 清除/RNA 吸附通用柱技术可以有效清除 gDNA 残留，OD260/OD280 典型的比值高达 2.1~2.2。一般不需要 DNase 消化，可用于反转录 PCR、荧光定量 PCR、高通量测序建库等实验。
4. 适应性广泛，成功提取包括棉花、月季、拟南芥、水稻、烟草、杨树等数百种样品。

【产品组份】

	50T	注意事项
裂解液 FEA	30 ml	
PlantMagic	3 ml	
去蛋白液 RW1	35 ml	
漂洗液 RW	10 ml	第一次使用前按标签说明加无水乙醇
RNase-free H ₂ O	5 ml	
DNA 清除/RNA 吸附通用柱和收集管 室温	100 套	

【注意事项】

- 1、所有的离心步骤均可在室温完成。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 FEA 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、本试剂盒可去除体系中大部分的 DNA 残留，纯化获得的 RNA 通常无需使用 DNase I 处理即可用于下游实验操作。不同样本核酸含量相差大，如果下游实验对痕量 DNA 十分敏感，可以使用 DNase I（mf110）进一步清除 DNA 污染或者提取过程中加 DNase I 柱上消化步骤（聚合美 mf611）。

【操作步骤】

<实验前请先阅读注意事项，第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶中加入指定量的无水乙醇!>

1. 取 550 μ l 裂解液 FEA 至 1.5 ml 离心管，加入 55 μ l PlantMagic 备用。
2. 液氮中研磨适量植物/真菌组织成细粉后，取 50 mg-100 mg 细粉转入上述装有裂解液 FEA（已经加入 PlantMagic）的离心管，立即剧烈涡旋震荡 30 sec，使样本与裂解液充分混合裂解完全，13,000 rpm 离心 5-10 min。

注意：样品处理量可根据具体情况增减，例如果实类如水分多可以适当加大处理量。

PlantMagic 帮助去除多糖多酚杂质，普通植物如水稻叶片等样品可以省略不加。个别情况如果 RNA 产量浓度低，也可尝试不加 PlantMagic，某些情况不加 PlantMagic 可能提高 RNA 产量浓度和成功率。

3. 立即取上清约 500 μ l 至 DNA 清除/RNA 吸附通用柱（已放入收集管中，以下简称通用柱）中，13,000 rpm 离心 30 sec，弃掉通用柱，保留收集管中的滤液（RNA 在滤液中）。

注意：上清体积可根据实际情况做出相应调整。

4. 向收集管中加入 0.5 倍滤液体积的无水乙醇（约 250 μ l，根据上清实际情况调整），移液器吹打混匀。

注意：若加醇后出现浑浊或有絮状物产生，属正常现象，可将混合液（包括絮状物）都加入通用柱中继续进行后续操作。

5. 立即将上述混合液转移至一个新的通用柱内（已放入收集管中），静置 1 min，13,000 rpm 离心 30 sec，弃滤液，将通用柱放回收集管。

注意：吸附柱容积为 750 μ l，若混合液超过该体积请分多次进行上柱。

6. 向通用柱中加入 700 μ l 去蛋白液 RW1，室温放置 1 min，13,000 rpm 离心 30 sec，弃滤液。

7. 向通用柱中加入 500 μ l 漂洗液 RW（使用前请检查是否已加入无水乙醇），13,000 rpm 离心 15 sec，弃滤液。

8. 重复步骤 7 一遍。

9. 将通用柱放回收集管中，13,000 rpm 离心 2 min。

注意：空甩作用是尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

10. 将通用柱转移至新的 1.5 ml 离心管中，向吸附柱膜中央悬空滴加 30-50 μ l 的 RNase-free ddH₂O，静置 1 min，13,000 rpm 离心 1 min。

注意：1) 洗脱体积建议不少于 30 μ l，体积过小会影响核酸回收效率。

2) 以下步骤都可以帮助提高 RNA 产物浓度：

RNase-free ddH₂O 于 90°C 预热；

将第一次洗脱液重新加入吸附柱进行洗脱，两次洗脱可以提高浓度约 10%。

11. 提取的 RNA 可直接用于下游实验或 -85°C ~ -65°C 保存。

【补充说明：单柱法快速提取操作步骤】

注意：以下两种情况可以尝试快速提取步骤简化操作或者提高浓度。

- ▲ 对于棉花、番茄、油菜等 DNA 含量低的物种，可以省略步骤 3 过滤步骤，按照单柱快速提取步骤提取，简化操作。
- ▲ 对于 RNA 含量低或者提取后浓度偏低的物种，可以尝试省略步骤 3 过滤步骤，按照单柱快速提取步骤提取，可能大幅度提高浓度。
第一次使用前请先按漂洗液 RW 瓶标签说明加入无水乙醇!

1. 取 550 μ l 裂解液 FEA 至 1.5 ml 离心管，加入 55 μ l PlantMagic 备用。

2. 液氮中研磨适量植物/真菌组织成细粉后，取 50 mg-100 mg 细粉转入上述装有裂解液 FEA（已经加入 PlantMagic）的离心管，立即剧烈涡旋震荡 30 sec，使样本与裂解液充分混合裂解完全，13,000 rpm 离心 5-10 min。转移上清约 500 μ l 到新离心管。

注意：样品处理量可根据具体情况增减，例如果实类如水分多可以适当加大处理量。

注意：PlantMagic 帮助去除多糖多酚杂质，普通植物如水稻叶片等样品可以省略不加。个别情况如果 RNA 产量浓度低，也可尝试不加 PlantMagic，某些情况不加 PlantMagic 可能提高 RNA 产量浓度和成功率。

3. 向离心管中加入 0.5 倍滤液体积的无水乙醇（约 250 μ l，根据上清实际情况调整），移液器吹打混匀。

注意：若加醇后出现浑浊或有絮状物产生，属正常现象，可将混合液（包括絮状物）都加入通用柱中继续进行后续操作。

4. 接操作步骤 5-11 步骤完成后续步骤。

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。