

磁珠法植物组织RNA提取试剂盒（多糖多酚）说明书

【产品名称】

通用名称：磁珠法植物组织RNA提取试剂盒（多糖多酚）

【包装规格】

50T/盒（货号 NG-MB0023-50T）； 100T/盒（ NG-MB0023-100T）

【预期用途】

适合于从 50~100mg 植物样品中提取总 RNA。同时适用于高通量的工作站等核酸自动化提取设备。得到的 RNA 可直接用于 Northern Blot及体外翻译等下游实验。

【检测原理】

RNA 在高盐低 pH 条件下结合于硅基包被的 Magbeads 表面，经过多次清洗，去除杂蛋白等，低盐条件下洗脱，得到高纯度的 RNA。

【主要组成成分】

组分	NG-MB0023-50T	NG-MB0023-100T
磁珠悬液	1.1mL	2×1.1mL
NP Columns	50	100
Buffer PST	40mL	80mL
Buffer W1A*	30mL	66mL
Buffer W2R*	15mL	30mL
RNase Free Water	10mL	20mL

【自备器材和试剂】

1. 器材：核酸提取仪（我司有不同通道核酸提取仪可选，可联系）、2.2mL96 深孔板（U 底）、磁棒套、离心管、磁力架、涡旋振荡器、移液器、恒温振荡器等；
2. 试剂：无水乙醇、异丙醇。

【储存条件及有效期】

本产品可在室温(15~25°C)保存 12 个月。

【注意事项】

1. Buffer W1A/W2R 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释；
2. 样本避免反复冻融；
3. 磁珠严禁冷冻，磁珠悬液使用前应充分混匀；
4. 操作前需要穿戴好防护装备；若不小心将试剂溅到皮肤或眼睛上，立即用清水冲洗 5-10min；
5. 每次使用前检查裂解液是否出现沉淀，若有，可在 55°C条件下重新溶解。

【单管手动操作步骤】

1. 样品前处理

- 1) 取植物样品进行液氮研磨，称取 50~100mg 样品，加入 600μL Buffer PST，高速涡旋 20~60s 打散样品，室温放置 5min。
- 2) 13,000 xg 离心 1min，转移 550μL 上清至 NP Columns 中，13,000 xg 离心 1min，待用。

2. 结合 RNA：加入 20μL 磁珠悬液 及 350μL 异丙醇至前处理后的上清液中，充分涡旋混匀。室温放置 5min，期间颠倒混匀数次。

3. 磁性分离：将离心管放置于磁力架静置 30s，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。

5. 清洗 2：将离心管从磁力架取下，加入 600μL Buffer W1A（请确认已加无水乙醇），涡旋混匀1min。将离心管放置于磁力架

静置 30s，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。

6. 清洗 3：将离心管从磁力架取下，加入 600 μ L Buffer W2R（请确认已加无水乙醇），涡旋混匀1min。将离心管放置于磁力架静置 30s，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。

7. 清洗 4：重复第 6 步一次。

8. 磁性分离：短暂离心，将离心管放置于磁力架上静置 10s，吸尽残液（此步骤不可省略，过多乙醇残留会导致后续实验抑制）。

9. 除醇：将离心管放于磁力架上，打开盖子，室温晾干 5-10min（干燥时间过长会导致洗脱困难）。

10. 洗脱：将离心管取下，加入 50~100 μ L RNase Free Water，涡旋混匀，55 $^{\circ}$ C恒温 1500rpm 震荡5min（亦可 55 $^{\circ}$ C水浴，期间涡旋混匀 3~4 次）。

11. 核酸转移：将离心管放于磁力架上，静置吸磁 2min，转移 RNA 溶液至新的离心管保存于- 80 $^{\circ}$ C。

【机提-16/32 通道核酸提取仪操作步骤】

1. 上样准备：在 96 孔板中分别参照下表用量加入每个相应孔位，可同步完成 16/32 个样品的处理。

孔列位	1/7	2/8	3/9	4/10	5/11	6/12
试剂	磁珠悬液 (20 μ L) + 异丙醇 (350 μ L)	Buffer W1A (600 μ L)	Buffer W1A (600 μ L)	Buffer W2R (600 μ L)	Buffer W2R (600 μ L)	RNase Free Water (50- 100 μ L)

2. 样品前处理

1) 取植物样品进行液氮研磨，称取 50~100mg 样品，加入 600 μ L Buffer PST，高速涡旋 20~60s 打散样品，室温放置 5min。

2) 13,000 xg 离心 1min，转移 550 μ L 上清至 NP Columns 中，13,000 xg 离心 1min,待用。

3. 上机提取

将上述处理好上清液转移至 96 深孔板的孔位 1/7 列，然后将准备好的 96 孔样品板按顺序放入核酸提取仪中，并插入磁棒套，打开仪器的操作程序，选中相应程序，点击运行，开始提取。

4. 核酸转移

仪器运行结束后，将 96 深孔板的第 6/12 列孔位的洗脱液转移至干净的无核酸酶的离心管中。

32 通道核酸提取仪器程序各参数设置如下：

步骤编号	孔位	名称	等待时间 (min)	混合时间 (min)	吸磁时间(sec)	容积 (μ L)	混合速度	温度 ($^{\circ}$ C)
1	1	裂解结合	0	5	60	1000	2	OFF
2	2	清洗 1	0	1	60	600	3	OFF
3	3	清洗 2	0	1	60	600	3	OFF
4	4	清洗 3	0	1	60	600	3	OFF
5	5	清洗 3	0	1	60	600	3	OFF
6	6	洗脱	2	5	60	100	3	60
7	5	弃磁珠	0	1	0	600	2	OFF

【机提—96 通道核酸提取仪操作步骤】

1. 上样准备:在各 96 孔板中分别参照下表用量加入每个相应板位,可同步完成 96 个样品的处理。

工位	1	2	3	4	5	6
试剂	磁珠悬液 (20 μ L) + 异丙醇 (350 μ L)	Buffer W1A (600 μ L)	Buffer W1A (600 μ L)	Buffer W2R (600 μ L)	Buffer W2R (600 μ L)	RNase Free Water (50- 100 μ L)

2. 样品前处理

- 1) 取植物样品进行液氮研磨,称取 50~100mg 样品,加入 600 μ L Buffer PST,高速涡旋 20~60s 打散样品,室温放置 5min。
- 2) 13,000 xg 离心 1min,转移 550 μ L 上清至 NP Columns 中,13,000 xg 离心 1min,待用。

3. 上机提取

将上述处理好上清液转移至工位 1 的 96 深孔板内,然后将准备好的 96 孔样品板按顺序放入核酸提取仪中,并插入磁棒套,打开仪器的操作程序,选中相应程序,点击运行,开始提取。

4. 核酸转移

仪器运行结束后,将第 6 工位的洗脱液直接封膜或转移至干净的无核酸酶的离心管中,于-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

96 通道核酸提取仪器“Plant RNA”程序各参数设置如下:

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
工位	1	2	3	4	5	6	5
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	2	3	3	3	3	3	2
混合时间	00:05:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:05:00	00:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:00:00
体积	1000 μ L	600 μ L	60 μ L	600 μ L	600 μ L	100 μ L	600 μ L
温度	—	—	—	—	—	60 $^{\circ}$ C	—