

磁珠法植物 RNA 提取试剂盒 V1.0

使用手册

Ver:241020

- ◇产品编号：RN61
- ◇常温运输、保存（15-25℃）
- ◇本产品仅供科研使用

成都百菲特科技有限公司

一、产品概述：

本试剂盒使用全新设计的溶液体系，搭配高性能的磁珠微球，可以提取小麦、水稻、玉米、大豆、烟草、番茄、土豆、花生、茄子、辣椒、葡萄、红薯、石斛、猕猴桃、无花果、小麦籽粒等样本的 RNA，操作流程兼容多个品牌的自动化核酸提取仪。

通过本试剂盒可以得到的 RNA 完整性好，纯度高，适合后续 qPCR 反应或转录组建库。

二、规格及组成：

组 分	RN61-96(96 rxn)	保存条件
裂解液	80 ml	室温
结合液 1	45 ml	室温
结合液 2	60 ml	室温
漂洗液 1	60 ml	室温
漂洗液 2	60 ml	室温
漂洗液 3	60 ml	室温
RNA 洗脱液	10 ml	室温
DNase I	350 μ l	-20℃
DNase Buffer	10 ml	-20℃
RNA beads	1.5 ml	2-8℃
使用手册	1 份	

三、注意事项：

1. 如果使用自动化核酸提取仪进行 RNA 提取，需要将溶液提前分装到 2.2ml 的 96 孔板中，根据仪器加热板位的情况选择相应的 V 底或M型底的板材，液体分装量如下：

溶液名称	板编号	分装体积	仪器对应位置
结合液 1+磁珠	1	450 μ l/孔+15 μ l/孔	3
漂洗液 1	2	600 μ l/孔	4
漂洗液 2	3	600 μ l/孔	5
DNase I 工作液	4	100 μ l/孔	6/4
漂洗液 3	5	600 μ l/孔	5
RNA 洗脱液	6	100 μ l/孔	6

2. DNase I 工作液的配制：将 3 μ l DNase I 加入到 97 μ l DNase Buffer 中，吹打混匀后即为 100 μ l DNase I 工作液，分装到 96 深孔板中，100 μ l/孔，根据样本数量按比例扩大配制体系。DNase I 工作液尽可能在使用前配制和分装，防止 DNase I 因在室温下长时间放置导致 DNase I 活性降低。

3. 装有与液体的板材在使用前需要低速离心，确保全部的溶液都在孔底部。

4. 经常用于提取 DNA 的核酸提取仪可能会残留 RNA 酶污染，极易导致提取过程中发生 RNA 降解，建议用于 RNA 提取的核酸提取仪不与 DNA 提取实验混用。

四、使用方法：

1. 取40-100mg植物样本，参照下述步骤将样本研磨至粉末状：

取适量新鲜叶片剪成5-10mm的碎片后，装入2ml研磨管，加入直径3-5mm的研磨珠，关闭盖子后在液氮中冷冻3-5min，然后迅速转移到组织研磨仪进行破碎。破碎后的样本呈粉末状，温度较低时呈浅绿色，此时加入800μl裂解液，立刻涡旋振荡混匀，样本和裂解液充分混匀后在室温静置5-10min。静置结束后在12,000×g 离心5min，沉淀细胞碎片。



注意：a.由于液氮冷冻后的样本温度非常低，加入裂解液后，粉末和液体的接触面可能会出现结冰的现象，不利于样本的混匀，需要用涡旋振荡仪振荡至样本完全分散在裂解液中，否则部分样本在未接触裂解液的情况下解冻也可能引起DNA降解。

b.如果样本数量较多，研磨成粉的样本可以连同研磨管一起平放在干冰上暂存。如果需要将研磨好的样本再放回液氮中暂存，需要注意研磨管在液氮中长时间浸泡后，液氮有可能从盖子缝隙处渗入，当在室温下操作研磨管时，研磨管中的液氮会快速汽化膨胀，极易引起研磨管炸裂，若经常出现这种情况，需要使用密封性更好的研磨管。

2. 转移450μl上清液到装有结合液1的96孔板中（已提前加入磁珠），避免吸入底部杂质。
3. 根据所使用的核酸提取仪器，安装好磁棒套，在对应的板位上放置相应的溶液，运行RNA提取程序1。

4. RNA提取程序1，参数示例：

序号	步骤名称	溶液	板位	体积(μl)	混合时间(min)	混合速度(1-10)	磁吸时间(min)	等待时间(min)	温度
1	结合1	结合液1	3	900	3	7	2	1	OFF
2	漂洗1	漂洗液1	4	600	2	7	2		OFF
3	漂洗2	漂洗液2	5	600	2	7	2		OFF
4	干燥1		5		0		0	3	OFF
5	洗脱DNA	DNase I 工作液	6	100	2	8	0		30℃
6	消化DNA	DNase I 工作液	6	100	10	1	0		30℃

5. 程序运行结束后，取出板位6的DNase I 工作液，在每个孔中加入600μl 结合液2，参照下表放回核酸提取仪的板位4，运行RNA提取程序2，程序2参数设置如下：

序号	步骤名称	溶液	板位	体积(μl)	混合时间(min)	混合速度(1-10)	磁吸时间(min)	等待时间(min)	温度
1	结合2	结合液2	4	700	3	7	2	1	OFF
2	漂洗3	漂洗液3	5	600	2	7	2		OFF
4	干燥2		5		0		0	3	OFF
5	洗脱RNA	RNA洗脱液	6	100	2	8	2		OFF

注意：自动化程序可以根据设备情况和RNA提取效果进行适当调整。

6. 程序运行结束后，板位6中的RNA洗脱液即为提取的RNA，建议转到PCR板后在-80℃长期保存。