

MagPure Plant RNA Kit

磁珠法植物 RNA 提取试剂盒

本产品为植物或真菌样品总 RNA 提取提供了一个自动化解决方案。产品基于高结合力的纳米磁性粒子的纯化方式。样品在裂解液作用下裂解消化，RNA/DNA 释放到裂解液中。加入结合液和磁性粒子吸附 RNA/DNA，而蛋白质则不被吸附而去除。吸附了 DNA/RNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和其它杂质，再经含乙醇洗涤去除盐分，然后加入 DNase 消化去除 DNA，最后 RNA 被低盐缓冲液洗脱。洗脱的 RNA 可直接用于 RT-PCR、病毒检测等实验。

产 品 组 份

● 瓶装试剂

产品编号	R6641-01	R6641-02	R6641-03
纯化次数	48 次	96 次	480 次
MagPure Particles N	1.6 ml	3.5 ml	17 ml
DNase I	600 μ l	2 x 600 μ l	10 x 600 μ l
DNase Buffer C	30 ml	60 ml	280 ml
Buffer PAL	10 ml	30 ml	100 ml
Buffer RLC	30 ml	60 ml	270 ml
Buffer MCB	9 ml	18 ml	75 ml
Buffer GW1 *	26 ml	53 ml	220 ml
Buffer MW2 *	10 ml	25 ml	100 ml
RNase Free Water	10 ml	30 ml	2 x 100 ml

保 存 条 件

本产品室温运输，长期保存时，把 MagPure Particles N 保存于 -2-8℃，DNase I 保存于 -20℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产 品 组 份

- 预分装试剂，版本，尖底板

货 号		试剂组份与装量	R6641-TL-06	R6641-S-48
DNase I			2 x 600 µl	600 µl
DNase Buffer			30 ml	15 ml
Buffer PAL			80 ml	40 ml
Buffer RLC			80 ml	40 ml
Buffer MLBN			60 ml	30 ml
DA-Tip			12 个	24 个
尖底板/ 试剂条	第 1/7 排孔：	500µl Buffer MCB	6 块	48 条
	第 2/8 排孔：	500µl DNase Buffer C		
	第 3/9 排孔：	500µl 洗涤液 GW1		
	第 4/10 排孔：	500µl Buffer MW2		
		30µl MagPure Particle N		
	第 5/11 排孔：	500µl Buffer MW2		
		第 6/12 排孔：		
		70µl RNase Free Water		

保 存 条 件 本产品室温运输，长期保存时，把 DNase I 保存于-20℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

准 备 事 项

- 在 Buffer GW1、MW2 中，加入适量的无水乙醇，于室温保存。
- 在 Buffer MCB 中，加入适量的异丙醇，于室温保存。
- 裂解液的选择：常规的简易植物或真菌用样品建议使用 Buffer RLC，多糖多酚类样品可以选择 Buffer RLF(低浓度胍盐裂解液)。多淀粉或更复杂样品，建议采用经典的 CTAB 裂解液，Buffer PAL，并配套氯仿或氯仿代替物 Buffer BDP 萃取后再上机提取。
- 2-巯基乙醇或 TCEP 的使用：由于 Buffer RLC 含有高浓度胍盐，大部分样品可无需添加还原剂就可以获得高质量 RNA。Buffer RLF 胍盐浓度低，按 1ml Buffer RLF 添加 50ul 巯基乙醇或 20ul 1M TCEP 来提高 RNase 的抑制能力。Buffer PAL 是经典的 CTAB 裂解液，按 1ml Buffer PAL 加入 20ul 巯基乙醇或 20ul 1M TCEP 来提高 RNase 的抑制能力。

第一部分: .单管式手工操作

1. 用液氮将植物或真菌样品研磨成细小的粉末, 转移不超过 50~100mg 粉末至 1.5ml 离心管, 按易提样品或难提样品方案进行操作。
 - 易提样品(胍盐法): 加入 0.6ml Buffer RLC/2-巯基乙醇, 剧烈涡旋打散样品。
 - 难提样品 (CTAB 法): 加入 0.6ml 预热至 65°C 的 Buffer PAL/2- 巯基乙醇, 剧烈涡旋打散样品, 65°C 温育 5 分钟, 加入 600 μ l 氯仿或 Buffer BDP(另外订购) 至裂解液, 高速涡旋 10 秒。
2. 室温下, 14,000 x g 离心 5 分钟, 转移 500 μ l 上清液至新的 1.5ml 离心管中。
3. 加入 30 μ l MagPure Particles N 和 500 μ l Buffer MCB, 涡旋混匀 10 秒, 室温放置 5~10 分钟, 其间颠倒混匀数次, 磁力架吸磁后倒弃或吸弃溶液。
4. 加入 500 μ l Buffer GW1, 涡旋 10 秒, 磁力架吸磁倒弃或吸弃溶液。短暂离心收集液滴, 吸弃全部残液后空气干燥 5 分钟。
5. 加入 510 μ l DNase Mixture (按比例预混 500 μ l DNase Buffer C 和 10 μ l DNase I), 涡旋重悬磁珠, 室温 800-1200rpm 振荡温育 20 分钟消化去除 DNA。磁力架吸磁倒弃或吸弃溶液。
6. 加入 500 μ l Buffer GW1, 涡旋 10 秒, 磁力架吸磁倒弃或吸弃溶液。
7. 加入 500 μ l Buffer MW2, 涡旋 10 秒, 磁力架吸磁后, 倒弃或吸弃溶液。
8. 加入 500 μ l Buffer MW2, 涡旋 10 秒, 磁力架吸磁后, 倒弃或吸弃溶液。
9. 短暂离心, 收集管壁上的液滴, 吸弃所有的溶液, 室温干燥 10 分钟。
10. 加入 50~100 μ l RNase Free Water, 涡旋打散磁珠, 室温静置 5 分钟。
11. 磁力架上吸磁 1~2 分钟, 把 RNA 转移至新的离心管中。

第二部分： 32/48 通道核酸提取仪操作

1. 瓶装试剂：按预分装试剂表格所示，按各种试剂分装至 96 孔板的对应孔中。
预分装试剂：颠倒 96 孔板让磁珠充分悬浮，正放 1 分钟后，去除封口袋和封口膜。
2. 用液氮将植物或真菌样品研磨成细小的粉末，转移不超过~50mg 粉末至 1.5ml 离心管，按易提样品或难提样品进行操作。
- 易提样品：立即加入 0.6ml Buffer RLC/2-巯基乙醇，剧烈涡旋打散样品，放置 3 分钟。
 - 难提样品：立即加入 0.6ml 预热至 65℃ 的 Buffer PAL/2- 巯基乙醇，剧烈涡旋打散样品，65℃ 放置 5 分钟，加入 600µl 氯仿或 Buffer BDP(另外订购) 至裂解液，高速涡旋 10 秒。
3. 室温下，14,000 x g 离心 5 分钟。
4. 在第 1/7 排孔中，加入 450~500µl 上清液。
5. 在第 2/8 排孔中，加入 10µl DNase I。
6. 把磁力外套插到仪器中，把 96 孔板放到仪器中(A1 孔按左内角放置)。编写程序，并启动对应程序。

序号	步骤名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	吸磁	4	500	20s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合1	1	900	400s	7	0	0	90s	10	10	自动	/	/
3	干燥	2	500	0	8	2min/晾干		0	0	0	自动	/	/
4	酶解	2	500	900s	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
5	清洗1	3	700	120s	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
6	清洗2	4	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	清洗3	5	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
8	干燥	5	500	0	8	3min/晾干		0	0	0	自动	/	/
9	洗脱	6	100	240s	8	0	0	60s	0	50	自动	/	/
10	弃磁	5	500	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

7. 约 50 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
8. 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。