

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，加入结合液回收 RNA，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	3.0 ml	17 ml
DNase I	600 μ l	2 x 600 μ l	10 x 600 μ l
DNase Buffer	15 ml	30 ml	150 ml
Buffer RLC	40 ml	70 ml	350 ml
Buffer MCB	9 ml	18 ml	75 ml
Buffer MLBN	30 ml	60 ml	300 ml
Buffer MW1 *	44 ml	66 ml	220 ml
Buffer MW2 *	20 ml	50 ml	2 x 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 RNA Particles 保存于 2-8 $^{\circ}$ C，DNase I 保存于 -20 $^{\circ}$ C，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 μ l	600 μ l
DNase Buffer		30 ml	15 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: 400 μ l Buffer MCB	6 块	48 条
	第2/8排孔: 750 μ l 洗涤液 MW1		
	第3/9排孔: 空		
	第4/10排孔: 750 μ l Buffer MW2 30 μ l MagPure Particle N		
	第5/11排孔: 750 μ l Buffer MW2		
	第6/12排孔: 70 μ l 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 $^{\circ}$ C, 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

准备事项

- 在 Buffer MW1、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。
- (可选)提升裂解液的变性能力: 使用前分装适量的 Buffer RL, 按每 ml Buffer RLC 加入 20 μ l β -巯基乙醇或 2M DTT, 混合液室温可保存 1 周。由于 β -巯基乙醇/DTT 的毒性, 多数情况下, 不添加也可得到完整的 RNA。

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~50mg 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: 立即加入 0.6ml Buffer RLC/2- 巯基乙醇, 剧烈涡旋打散样品, 放置 5 分钟。
 - 难提样品: 立即加入 0.6ml Buffer PAL/2- 巯基乙醇, 剧烈涡旋打散样品, 65°C 温育 10 分钟, 然后加入 600 μ l 氯仿, 高速涡旋 15 秒。[Buffer PAL 需要另外订购]
2. 室温下, 14,000 \times g 离心 5 分钟。
4. 转移 500 μ l 上清液至新的 1.5ml 离心管中。
5. 加入 30 μ l MagPure Particles N 和 400 μ l Buffer MCB, 涡旋混匀 15 秒。室温放置 5 分钟, 其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
6. 加入 500 μ l Buffer MW1, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
7. 短暂离心收集管壁上的液滴, 吸弃所有溶液。空气干燥 3 分钟。
8. 加入 250 μ l DNase Mixture (240 μ l DNase Buffer + 10 μ l DNase I)至样品中, 室温振荡温育 15 分钟消化去除 DNA。
9. 加入 500 μ l Buffer MLBN 至样品, 涡旋混匀 15 秒。室温放置 6 分钟, 其间混匀 2~3 次。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
10. 加入 500 μ l Buffer MW2, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
11. 加入 500 μ l Buffer MW2, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
12. 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。
13. 加入 30~100 μ l RNase Free Water 至样品中, 涡旋打散磁珠。室温静置 3 分钟。转移至磁力架上吸附 3 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

- 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。
- 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- 疏基乙醇，剧烈涡旋打散样品，放置 5 分钟。
 - 难提样品：立即加入 0.6ml Buffer PAL/2- 疏基乙醇，剧烈涡旋打散样品，65°C 放置 10 分钟。然后加入 600µl 氯仿至裂解液中，高速涡旋 15 秒。
- 室温下，14,000 × g 离心 5 分钟。在第 1/7 排孔中，加入 500µl 上清液。
- 在第 3/9 排孔中，加入 250µl DNase 混和液 (240µl DNase Buffer + 10µl DNase I)。
- 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	700	20s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合1	1	900	300s	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
3	清洗1	2	700	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
4	干燥	2	700	0	8	2min/晾干		0	0	0	自动	/	/
5	酶解	3	250	600s	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
6	暂停	3	250	0	0	暂停/晾干		0	0	0	自动	/	/
7	结合2	3	700	300s	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
8	清洗2	4	700	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
9	清洗3	5	700	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
10	干燥	5	700	0	8	5min/晾干		0	0	0	自动	/	/
11	洗脱	6	100	240s	8	0	0	60s	0	50	自动	/	/
12	弃磁	5	700	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

- 约 30 分钟，提取暂停。取出 96 孔板，在第 3/9 排孔中，加入 500µl Buffer MLBN。
- 继续执行程序，约 30 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
- 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8°C。