

磁珠法植物 RNA 提取试剂盒

RN37

使用手册

Ver:260404

- ◇产品编号：RN37
- ◇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、小麦种子等样本的 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	DN37-100 (100 rxn)	DN37-96 (96 rxn)	保存条件
裂解液	70 ml	70 ml	室温
溶液 TP	3.5 ml	3.5 ml	-20℃
结合液	50 ml	50 ml	室温
漂洗液 1	60 ml	60 ml	室温
漂洗液 2	60 ml	60 ml	室温
漂洗液 3	60 ml	60 ml	室温
DNase Buffer 1	15 ml	1.5ml	2-8℃
DNase Buffer 2	1.5 ml	1.5ml	-20℃
DNase I	400 μl	400 μl	-20℃
RNA 洗脱液	10ml	10ml	室温
RNA beads	1.5ml	1.5ml	2-8℃
使用手册	1 份	1 份	

三、注意事项：

1. 产品编号 DN37-96 产品中的各个溶液已预分装到 96 深孔板中，可以搭配 96 通道自动化核酸提取仪实现自动化 DNA 提取，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+磁珠	1	450μl/孔+15μl/孔	1
漂洗液 1	2	600μl/孔	3
DNase I 工作液	3	154μl/孔	2
漂洗液 2	4	600μl/孔	4
漂洗液 3	5	600μl/孔	5
RNA 洗脱液	6	100μl/孔	6

2. DNase I 工作液的配制：

根据样本数量，配制相应体积的 DNase I 工作液，DNase I 工作液配制见下表。DNase I 工作液需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，配制好的工作液需在 4℃ 暂存，在运行提取程序时再放入核酸提取仪中。

试剂	每反应加入量
DNase Buffer 1	135ul
DNase Buffer 2	15ul
DNase I	4ul

3. 装有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：（自动化提取）

 注意：溶液A在低温下可能会出现沉淀，若出现沉淀，通常在60℃加热10min左右即可完全溶解。

1. 准备裂解液：每700ul裂解液中加入35ul 溶液TP，混合后备用。
2. 普通植物样本取30-100mg，多糖多酚样本如葡萄、猕猴桃，取样量不大于30mg，参照下列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，转入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1-3min，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735ul裂解液（已加入溶液TP），立刻涡旋振荡混匀，样本和裂解液充分混匀后，将离心管在60℃加热5-10min，可以促进样本更好地裂解，有利于提高RNA产量。

 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，可能会引起RNA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，需要避免将研磨管长时间浸没在液氮中，否则液氮可能从盖子缝隙处渗入管内，当从液氮中取出研磨管，并在室温下添加裂解液时，研磨管中残余的液氮会因为受热而快速汽化膨胀，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，并避免研磨管长时间浸没到液面以下。

3. 加热结束后，装有样品的离心管在12,000×g 离心5min，沉淀细胞碎片。
4. 转移450ul上清液到装有结合液的96孔板中，避免吸入底部杂质。
5. 根据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，运行程序。

6. RNA提取程序，参数示例：

序号	步骤名称	溶液	板位	容积 (μ l)	混合		等待		吸磁时间			温度
					时间 min	速度 1-10	时间 min	位置	升降 min	液面 sec	底部 sec	
1	结合	结合液	1	900	3	7	0		2	30	30	关闭
2	漂洗1	漂洗液1	3	600	1	7	0		2	20	20	关闭
3	干燥		3	600	0		3	晾干	0			关闭
4	洗脱DNA	DNase I 工作液	2	150	2	7	0		0			30℃
5	消化DNA	DNase I 工作液	2	150	15	1	0		3	50	30	30℃
6	漂洗2	漂洗液2	4	600	1	7	0		3	30	30	关闭
7	漂洗3	漂洗液3	5	600	1	7	0		1	20	20	关闭
8	干燥		5	600	0		3	晾干	0			关闭
9	洗脱RNA	洗脱液	6	100	3	7	0		2	50	30	关闭
10	移板		2	150	0		0		0			关闭

注意：1. 上述提取程序适配圣湘Natch-96全自动核酸提取仪。

2. 对于其它品牌的核酸提取仪，在编写程序时可以参考本程序的混合时间、速度、吸磁时间等，适当灵活调整。在编写程序中的任何疑问可以咨询本公司售后。

7. 程序运行结束后，板位7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。

四、使用方法2：（手工操作）

1. 参照上述步骤1-3，完成相应的裂解和离心操作。
2. 转移500 μ l上清液到新的1.5ml离心管中，依次加入500 μ l 结合液和 15 μ l DNA beads，涡旋混匀30秒，室温下结合5min。
3. 将离心管放置到磁力架吸磁2-3min，待溶液澄清后吸弃上清液。
4. 加入600 μ l 漂洗液1，取下离心管，涡旋混匀30秒，上磁力架吸磁1-2min，溶液澄清后吸弃上清液。
5. 保持离心管在磁力架上，在室温下晾干磁珠。当磁珠表面无明显光泽时（约3-4min），取下离心管。
6. 加入154 μ l配制好的DNase I工作液，涡旋混匀30秒，在室温下静置15-20min，完成DNA消化。
7. 将离心管放置到磁力架吸磁2-3min，待溶液澄清后吸弃上清液。
8. 加入600 μ l 漂洗液2，取下离心管，涡旋混匀30秒，上磁力架吸磁1-2min，溶液澄清后吸弃上清液。
9. 加入600 μ l 漂洗液3，取下离心管，涡旋混匀30秒，上磁力架吸磁1-2min，溶液澄清后吸弃上清液。
10. 保持离心管在磁力架上，在室温下晾干磁珠。当磁珠表面无明显光泽时（约3-4min），取下离心管。
11. 加入70-100 μ l RNA洗脱液，涡旋混匀30秒，让磁珠完全分散到溶液中，确保无团块状的磁珠残留，室温静置5min后，将离心管置于磁力架上吸磁1-2min，转移上清液到新的1.5ml离心管中，即得到纯化后的RNA溶液，可以在-80℃长期保存。