

# Plant RNA Extraction CZ Kit

## 磁珠法植物 RNA 提取试剂盒

本产品适合于从 50~100mg 植物样品中提取总 RNA。试剂盒基于超顺磁性的磁珠纯化技术，在提取过程中根据磁珠特定条件下与核酸超高的亲和力以及条件改变时释放核酸的特性，达到快速分离纯化核酸的效果。尤其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。

### 产品组份

产品编号	RNP644-01	RNP644-02
纯化次数	50 T	100 T
MagExtract Suspension	1.1 ml	2×1.1 ml
Buffer PST	40 ml	80 ml
DNase I	550 µl	1.1 ml
DNase Buffer	20 ml	40 ml
Buffer W1A*	13 ml	30 ml
Buffer W2R*	15 ml	30 ml
Buffer VLF*	50 ml	100 ml
RNase Free Water	10 ml	20 ml

### 保存条件

本产品除 DNase I 外，可在室温(15~25°C)保存 12 个月，DNase I 室温运输，收到后保存至-20°C。因 RNase Free Water 不含抑菌剂，室温放置或操作时可能会引入细菌或真菌污染。推荐分装并保存于 2~8°C，以减少污染。

### 准备事项

- Buffer W1A/W2R 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

## 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 $\mu$ l Buffer PST，高速涡旋 20~60 秒打散样品，室温放置 5 分钟。
2. 13,000 xg 离心 1 分钟，转移 450~500 $\mu$ l 上清至新的离心管中，待用。
3. 按照下表进行试剂分装

## KingFisher Flex 核酸提取仪

板名称	预装试剂	使用前加入
样品板 (深孔板)	20 $\mu$ l MagExtract Suspension 450 $\mu$ l Buffer VLF	● 450~500 $\mu$ l 上清液
洗板1 (深孔板)	600 $\mu$ l Buffer W1A	使用前放入Tip
DNase板	290 $\mu$ l DNase Buffer 10 $\mu$ l DNase I	暂停后加入 450 $\mu$ l Buffer VLF
洗板2 (深孔板)	600 $\mu$ l Buffer W2R	
洗板3 (深孔板)	600 $\mu$ l Buffer W2R	
洗脱板 (深/浅孔板)	100 $\mu$ l RNase Free Water	

1. 启动 KingFisher Bindit 3.3 程序，导入 RNP644 程序。
2. 执行程序，按提示将装有样品或试剂的 96 孔板放到仪器对应的槽中。
3. 约 30 分钟后程序执行完毕。取出 RNA 样品，用封口膜封好。把 RNA 保存于 -20 $^{\circ}$ C。

### 32 通道核酸提取仪

孔位	预装试剂	使用前加入
第1/7列孔	20μl MagExtract Suspension 450μl Buffer VLF	● 450~500ul上清液
第2/8列孔	600μl Buffer W1A	
第3/9列孔	290ul DNase Buffer 10ul DNase I	暂停后加入 450μl Buffer VLF
第4/10列孔	600μl Buffer W2R	
第5/11列孔	600μl Buffer W2R	
第6/12列孔	100μl RNase Free Water	

#### 1. 程序设置:

孔位	等待时间	混合时间	混合速度	吸磁次数	体积	温度
1	0	8 min	中速	2 次	700ul	关闭
2	0	1 min	中速	2 次	600ul	关闭
3	3 min	15 min	中速	1 次	80ul	关闭
暂停						
3	0	5 min	中速	1 次	600ul	关闭
4	0	1 min	中速	1 次	600ul	关闭
5	0	1 min	中速	1 次	600ul	关闭
6	5 min	5 min	中速	5 次	100ul	关闭
5	0	1 min	中速	0 次	600ul	关闭

1. 执行程序，按提示将装有样品或试剂的 96 孔板放到仪器对应的槽中。
2. 约 50 分钟后程序执行完毕。取出 RNA 样品，用封口膜封好。把 RNA 保存于 -20℃。

## 实验步骤（手工操作）

1. 加入 20 $\mu$ l MagExtract Suspension 及 450 $\mu$ l Buffer VLF 至前处理后的上清液中，充分涡旋混匀。室温放置 5 分钟，期间颠倒混匀数次。
2. 将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
3. 将离心管从磁力架取下，加入 600 $\mu$ l Buffer W1A，涡旋混匀 1 分钟。将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
4. 短暂离心，将离心管放置于磁力架上静置 10 秒，吸尽残液。打开管盖，放置 3 分钟。（此步骤不可省略，过多乙醇残留会导致后续实验抑制）
5. 加入 10 $\mu$ l DNase I, 290 $\mu$ l DNase Buffer 至离心管中，用移液枪轻柔吹打混匀磁珠。室温放置 15 分钟。
6. 加入 600 $\mu$ l Buffer VLF，涡旋混匀 1 分钟，室温静置 3 分钟。
7. 将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
8. 将离心管从磁力架取下，加入 600 $\mu$ l Buffer W2R（已用无水乙醇稀释），涡旋混匀 1 分钟。将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
9. 重复第 8 步一次。
10. 短暂离心，将离心管放置于磁力架上静置 10 秒，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）
11. 将离心管放于磁力架上，打开盖子，室温晾干 10 分钟。（干燥时间过长会导致洗脱困难）
12. 将离心管取下，加入 50~100 $\mu$ l RNase Free Water，涡旋混匀，55 $^{\circ}$ C 振荡温浴 5 分钟，若无振荡温浴，期间涡旋混匀 3~4 次。
13. 将离心管放于磁力架上，静置吸磁 2 分钟，转移 RNA 溶液至新的离心管保存于 -80 $^{\circ}$ C。