

# MolPure® Mag Plant RNA Kit

## 磁珠法通用植物 RNA 提取试剂盒

### 产品简介

MolPure® Mag Plant RNA Kit 磁珠法通用植物 RNA 提取试剂盒可以有效去除多糖多酚植物样本中的蛋白质、多糖以及酚类等杂质，从多种植物组织中分离纯化高质量 RNA，提取的 RNA 纯度高，质量稳定可靠。适用样本类型包含如枣树叶、荔枝叶、樟树叶、柳树叶、荔枝果肉、橙子肉、龙眼果肉、石榴果肉等。本试剂盒得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Real Time RT-PCR、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、Poly A 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆等多种下游实验。

### 产品信息

货号	18534ES24/18534ES48
规格	24T/48T

### 组分信息

类别	组分编号	组分名称	18534ES24	18534ES48
Part I	18534-A	裂解液	24 mL/瓶×1	48 mL/瓶×1
	18534-B	结合液	7 mL/瓶×1	15 mL/瓶×1
	18534-C	结合液 Plus	15 mL/瓶×1	30 mL/瓶×1
	18534-D	磁珠悬浮液	0.7 mL/支×1	1.1 mL/支×1
	18534-E	磁珠稀释液	20 mL/瓶×1	40 mL/瓶×1
	18534-F	洗涤液 A	20 mL/瓶×1	38 mL/瓶×1
	18534-G	洗涤液 B	40 mL/瓶×1	76 mL/瓶×1
	18534-H	洗脱液	3 mL/瓶×1	5 mL/瓶×1
Part II	18534-I	蛋白酶 K	0.6 mL/支×1	1.1 mL/支×1
	18534-J	DNA 酶反应液	1 mL/支×2	4 mL/瓶×1
	18534-K	分层液	6 mL/瓶×1	12 mL/瓶×1
Part III	18534-L	DNase I	0.3 mL/支×1	0.6 mL/支×1

### 储存条件

Part I 室温保存，有效期 18 个月；

Part II 2~8°C 保存，其中分层液 2~8°C 避光保存，有效期 18 个月；

Part III -25~-15°C 保存，有效期 18 个月。

### 注意事项

1. 本试剂盒中的多种缓冲液含有刺激性的胍盐，务必戴上手套，并按照安全标准预防措施来处理。不要让缓冲液接触到皮肤、眼睛以及黏膜，如果确实发生，请立即用大量清水清洗并就医。
2. 如因气温较低，溶液出现沉淀，需要 30°C 水浴至沉淀完全溶解后方可使用。
3. 如因气温较低，裂解液出现沉淀，可 60°C 水浴至沉淀完全溶解后使用。

4. 如因气温较低，用力振荡后磁珠无法重悬，请勿使用。
5. 本试剂盒中的多种缓冲液含胍盐，请勿用氧化性消毒剂如次氯酸钠进行处理，否则会释放有毒气体，须按医疗废物进行处理。
6. 本产品仅作科研用途！

## 使用说明

### 自备试验器材及试剂

- ❖ 恒温水浴锅（当溶液出现沉淀时使用）、干式恒温仪
- ❖ 磁力架(1.5/2.0 mL)、1.5/2.0 mL 无菌无核酸酶离心管、各种规格移液器及 Tips（10、20、200、1000  $\mu$ L）
- ❖  **$\beta$ -巯基乙醇**

### 第一部分：样本处理

- 1.1 实验前检查溶液是否有沉淀，磁珠是否能重悬。
- 1.2 实验前在**裂解液**中加入 **$\beta$ -巯基乙醇**至终浓度为5%，如760  $\mu$ L **裂解液**中加入40  $\mu$ L  **$\beta$ -巯基乙醇**。此裂解液最好现用现配。配制好的裂解液在2~8 $^{\circ}$ C可放置一个月。
- 1.3 用液氮将植物研磨成粉末，称取50~100 mg 粉末至2.0 mL 离心管中。
  - ❖ 注意：果肉样本因含水量高，使用液氮速冻后会难以研磨，建议用纱布包裹果肉样本，用研磨杵将果肉敲碎挤掉汁水后再进行液氮研磨。
- 1.4 加入700~900  $\mu$ L 配制好的**裂解液**和**20  $\mu$ L 蛋白酶 K**，涡旋混匀，室温放置2~3 min。
  - ❖ 备注：视样本含水量情况加入裂解液，若样本含水量较少，可增加裂解液用量，若样本含水量较高，可减少裂解液 RPL 用量，步骤 1.7 离心后的上层水相溶液需大于500  $\mu$ L。
- 1.5 12,000 $\times$ g 离心3 min。
- 1.6 取所有上清于1.5 mL 离心管中，加入**200  $\mu$ L 分层液**，手动剧烈振荡15 s，室温放置2~3 min。
- 1.7 4 $^{\circ}$ C，12,000 $\times$ g 离心5 min。

### 第二部分：单管操作

磁分离操作建议（步骤 2.2 开始）：离心管置于磁力架后，轻轻地左右旋转，待磁珠聚集于贴近磁力架的管壁后，轻轻地颠倒磁力架数次，使管盖上的磁珠也聚集到管壁，静置数分钟至溶液澄清即可（静置时长视磁力架磁性而定）。

- 2.1 取500  $\mu$ L 上层水相溶液于新的1.5 mL 离心管中，加入**500  $\mu$ L 结合液 Plus**、**20  $\mu$ L 磁珠悬浮液**，振荡或涡旋7~10 min 使磁珠吸附核酸。
- 2.2 转移至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。
- 2.3 加入**700  $\mu$ L 洗涤液 A**，涡旋30 s 后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。
- 2.4 加入**70  $\mu$ L DNA 酶反应液**和**10  $\mu$ L DNase I**，涡旋混匀，室温放置10~15 min（每3~4 min 涡旋1次，每次30 s）。
- 2.5 涡旋混匀30 s，加入**240  $\mu$ L 结合液**，振荡或涡旋5 min。
- 2.6 加入**700  $\mu$ L 洗涤液 B**，涡旋30 s 后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。
- 2.7 再次加入**700  $\mu$ L 洗涤液 B**，涡旋30 s 后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。
- 2.8 掌上离心机瞬时离心后，转至磁力架上吸附至溶液澄清，充分吸弃所有溶液，打开管盖，空气干燥3~5 min。
  - ❖ 注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。切勿干燥过久，以免影响后续洗脱效果。
- 2.9 加入**30~60  $\mu$ L 洗脱液**，高速涡旋2~3 min 打散磁珠。
- 2.10 45 $^{\circ}$ C温浴5 min，然后高速涡旋60 s。
- 2.11 瞬时离心收集管盖液滴至管中，转移至磁力架上进行磁分离。
- 2.12 提取的RNA溶液转移至新的1.5 mL 无菌无核酸酶的离心管中，如果不立即使用，请存储于-15~-25 $^{\circ}$ C，长期保存请放置于-70 $^{\circ}$ C或更低的温度。

### 第三部分：搭配翌圣 AP-16S/AP-48 核酸提取仪操作

3.1 将瓶装试剂分装至 96 孔板对应的孔中，按如下表格分装：

列	步骤	试剂名称	投入量	备注
1/7	结合	结合液 Plus	500 $\mu$ L	
2/8	漂洗 1	洗涤液 A	800 $\mu$ L	
3/9	酶消化	DNase Mix	80 $\mu$ L	70 $\mu$ L DNA 酶反应液+10 $\mu$ L DNase I
4/10	漂洗 2	磁珠悬浮液	20 $\mu$ L	磁珠加入前充分混匀
		磁珠稀释液	780 $\mu$ L	
5/11	洗脱	洗脱液	60 $\mu$ L	
6/12	漂洗 3	洗涤液 B	800 $\mu$ L	

3.2 转移 500  $\mu$ L 上层水相溶液（1.7 步骤）至第 1/7 列对应孔位中。

3.3 把磁棒套插到仪器中。把板子放到仪器相应位置。根据使用的提取仪，AP-16S 和 AP-48 分别启动不同的程序。

**注意：**程序运行中途，仪器响起暂停声后，需取出 96 孔板，在第 3/9 列加入 240  $\mu$ L 结合液，然后点击开始(红色图标) 运行。

3.4 程序结束后，将洗脱孔（第 5/11 列）中的洗脱液转移至新的离心管中，溶液可置于 -20 $^{\circ}$ C 短期保存，-80 $^{\circ}$ C 长期保存。

#### AP-16S 核酸提取仪的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步	第 8 步	第 9 步
工位	4	1	2	3	3	4	6	5	4
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:01:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:01:00	00:00:00
混合模式	3	2	3	4	3	3	3	4	3
混合时间	00:00:30	00:01:00	00:01:00	00:10:00	00:05:00	00:01:00	00:01:00	00:05:00	00:00:30
是否暂停	否	否	否	是	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:00:30	00:03:00	00:01:00	00:00:00	00:02:00	00:01:00	00:01:00	00:03:00	00:00:00
体积	800	900	800	80	320	800	800	60*	800
温度	--	--	--	--	--	--	--	45 $^{\circ}$ C	--
混合模式 M2:混合时间 10 s, 混合速度 12000									
混合模式 M3:混合时间 10 s, 混合速度 18000									
混合模式 M4:混合时间 10 s, 混合速度 23000									

#### AP-48 核酸提取仪的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步	第 8 步	第 9 步
工位	4	1	2	3	3	4	6	5	4
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:01:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:01:00	00:00:00
混合模式	3	2	3	4	3	3	3	4	3
混合时间	00:00:30	00:10:00	00:01:00	00:10:00	00:05:00	00:01:00	00:01:00	00:05:00	00:00:30
是否暂停	否	否	否	是	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:00:30	00:03:00	00:01:00	00:00:00	00:02:00	00:01:00	00:01:00	00:03:00	00:00:00
体积	800	900	800	80	320	800	800	60*	800
温度	--	--	--	--	--	--	--	45 $^{\circ}$ C	--

混合模式 M2:混合时间 10 s, 混合速度 150000
混合模式 M3:混合时间 10 s, 混合速度 250000
混合模式 M4:混合时间 10 s, 混合速度 350000

#### 第四部分：搭配翌圣 AP-96N 核酸提取仪操作

4.1 将瓶装试剂分装至对应的 96 孔板中，按如下表格分装：

板位	步骤	试剂名称	投入量	备注
1	结合板	结合液 Plus	500 μL	
2	漂洗板 1	洗涤液 A	800 μL	
3	酶消化	DNase Mix	80 μL	70μL DNA 酶反应液+10 μL DNase I
4	漂洗板 2	磁珠悬浮液	20 μL	磁珠加入前充分混匀
		磁珠稀释液	780 μL	
5	漂洗板 3	洗涤液 B	800 μL	
6	洗脱板	洗脱液	60 μL	

**注意：**每个板子加入的孔位需要一致。磁珠加入前充分混匀。

4.2 转移 500 μL 上清液（1.7 步骤）至结合板对应孔位中。

4.3 把磁棒套插到仪器中。把 6 块板子放到仪器相应位置。启动程序。

**注意：**程序运行中途，仪器响起暂停声后，需取出板位 3 的酶消化板，在对应孔内加入 240 μL 结合液，然后点击开始(红色图标)运行。

4.4 程序结束后，将洗脱板中的洗脱液转移至新的离心管中，溶液可置于-20℃短期保存，-80℃长期保存。

#### AP-96N 核酸提取仪的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步	第 8 步	第 9 步
工位	4	1	2	3	3	4	5	6	4
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:01:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:01:00	00:00:00
混合模式	M 3	M 2	M 3	M 4	M 3	M 3	M 3	M 4	M 3
混合时间	00:00:30	00:10:00	00:01:00	00:10:00	00:05:00	00:01:00	00:01:00	00:05:00	00:00:30
是否暂停	否	否	否	是	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:00:30	00:03:00	00:01:00	00:00:00	00:02:00	00:01:00	00:01:00	00:03:00	00:00:00
体 积	800	900	800	80	320	800	800	60*	800
温 度	--	--	--	--	--	--	--	45℃	--
混合模式 M2:混合时间 10 s, 混合速度 200000									
混合模式 M3:混合时间 10 s, 混合速度 300000									
混合模式 M4:混合时间 10 s, 混合速度 400000									

**备注：**第 8 步洗脱体积，可以根据实际加入的洗脱液体积设置。