



# Magbead Plant RNA Kit

## 磁珠法植物RNA提取试剂盒

Cat. No. CW3710S

### 产品简介

本试剂盒提供了一种简单、高效的植物RNA自动化提取方案。植物组织经物理方法破碎后，裂解产物中的RNA在高盐存在时结合于硅基包被的磁珠表面，经漂洗液漂洗去除蛋白质等杂质，然后加入DNase I去除DNA，最后RNA经过漂洗后洗脱于RNase-Free Water中。本试剂盒提取得到的总RNA纯度高，无基因组DNA、蛋白质和其它杂质的污染，可用于Real Time RT-PCR、RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot和体外翻译等多种下游实验。

**保存条件：** DNase I及10×Reaction Buffer -20℃保存，其它组分室温（15-30℃）。

### 产品内容

Component	CW3710S 96 preps
DNase I (1 U/μL)	2×1 mL
10×Reaction Buffer	1 mL
Buffer PRL	60 mL
Buffer PA	40 mL
Buffer PGW1 (concentrate)	25 mL
Buffer RW2 (concentrate)	40 mL
RNase-Free Water	10 mL
Magbeads PN	2×1 mL

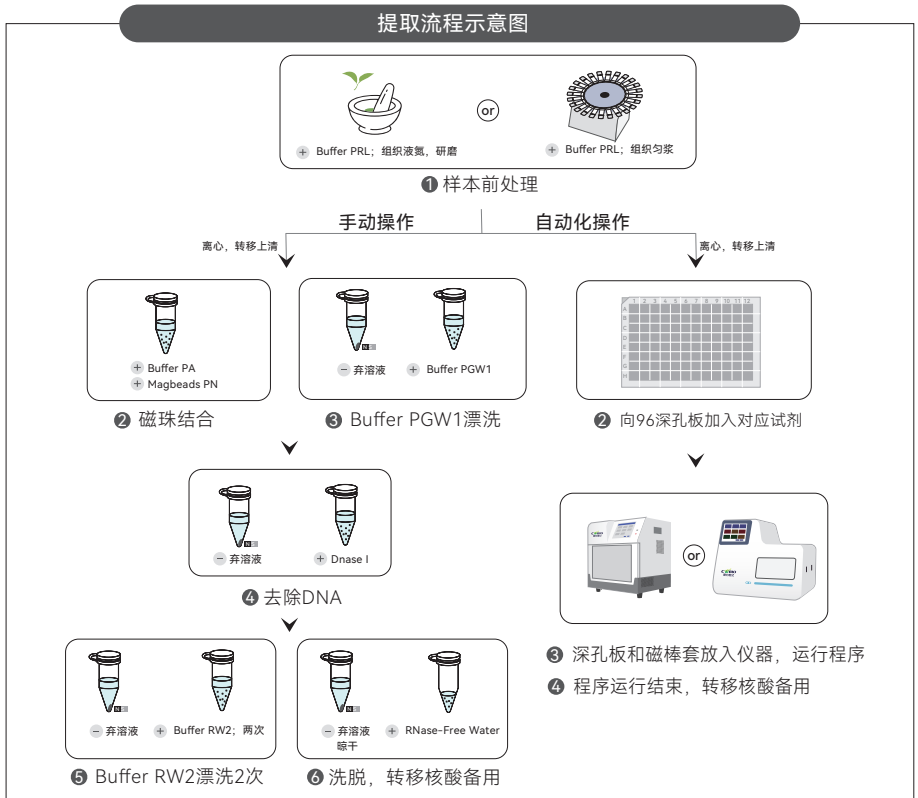
### 自备仪器、试剂

1. CWE2100或CWE960、离心机、96 DW Plate、8 tip Com、Spin tips pack、RNase-free EP管、RNase-free枪头、研钵等。
2. 乙醇（新开封或提取RNA专用）。

## 实验前准备及重要注意事项

1. 实验前准备：新开封的试剂盒，需按照试剂瓶标签的说明预先在Buffer PGW1 (concentrate) 及Buffer RW2 (concentrate) 中加入对应量的无水乙醇，使用前检查是否加入了无水乙醇，加无水乙醇后须将瓶盖拧紧，防止挥发。
2. 注意事项：
  - 2.1 操作人员应戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套，并使用无RNase的塑料制品及枪头，避免RNase污染。
  - 2.2 淀粉含量高的植物组织（如小麦干种子、玉米干种子等）会与裂解液反应产生胶状物质，且裂解时间越长，胶状物质越多，不推荐使用本试剂盒进行提取，请联系申请另一款裂解液。
  - 2.4 推荐使用新鲜植物样本进行提取，若无法及时提取，样本应液氮冷冻后冻存于-70℃以下。同时应避免反复冻融，否则影响RNA提取得率和质量。
  - 2.5 配制DNase I 混合液：取52  $\mu\text{L}$  RNase-Free Water，向其中加入8  $\mu\text{L}$  10 $\times$ Reaction Buffer 和20  $\mu\text{L}$  DNase I (1U/ $\mu\text{L}$ )，混匀，配制成终体积为80  $\mu\text{L}$  的反应液。

## 操作步骤



## 样本前处理

### 1. 植物组织的破碎:

- 1) 方案1: 取30-100mg新鲜植物组织或冻存的植物组织在液氮中迅速研磨成粉末, 加入600  $\mu\text{L}$  Buffer PRL, 立即剧烈涡旋震荡使其充分混匀裂解。
- 2) 方案2: 向2.0 mL离心管中加入30-100 mg新鲜植物组织或冻存的植物组织、600  $\mu\text{L}$  Buffer PRL和1颗钢珠, 之后立即将离心管固定于组织破碎机中震荡破碎;

### 2. 4°C, 14,000 rpm离心5 min后, 转移全部上清 (约500 $\mu\text{L}$ ) 至新的1.5 mL离心管 (自备) 中。

**注:** 吸取上清时尽量避免吸取到悬浮物, 有少量悬浮物为正常现象, 若悬浮物较多, 可延长离心时间。

## 手动操作

### 1. (上接样本前处理) 向1.5 mL离心管中加入350 $\mu\text{L}$ Buffer PA和20 $\mu\text{L}$ Magbeads PN, 涡旋混匀后, 在恒温混匀仪上室温1700 rpm震荡混匀5 min。瞬时离心后置于磁力架上, 待溶液澄清后弃去溶液。

**注:** Magbeads PN在使用前充分混匀, 多个样本加入磁珠的时候中间一定要经过几次摇匀。

### 2. 将离心管从磁力架上取下, 加入500 $\mu\text{L}$ Buffer PGW1 (使用前检查是否已加入无水乙醇), 涡旋混匀后, 在恒温混匀仪上室温1700 rpm震荡混匀2 min。瞬时离心后置于磁力架上, 待溶液澄清后弃去溶液。

### 3. 将离心管从磁力架上取下, 加入80 $\mu\text{L}$ DNase I混合液, 涡旋混匀后, 在恒温混匀仪上室温1700 rpm震荡混匀5 min。瞬时离心后置于磁力架上, 待溶液澄清后弃去溶液。

### 4. 将离心管从磁力架上取下, 加入700 $\mu\text{L}$ Buffer RW2 (使用前检查是否已加入无水乙醇), 涡旋混匀后, 在恒温混匀仪上室温1700 rpm震荡混匀2 min。瞬时离心后置于磁力架上, 待溶液澄清后弃去溶液。

### 5. 重复步骤4一次。

### 6. 室温干燥5-10 min使乙醇充分挥发, 肉眼观察磁珠表面变成哑光且磁珠无干裂时, 加入100 $\mu\text{L}$ RNase-Free Water, 用移液枪吹打或震荡混匀。瞬时离心后置于恒温混匀仪上65°C, 1700 rpm 震荡10 min。

**注:** 吸弃废液后可将离心管瞬时离心, 并置于磁力架上, 用10  $\mu\text{L}$ 移液枪将残留的液体弃尽。

### 7. 将离心管固定于磁力架上, 待溶液澄清后将洗脱产物转移至新的离心管中-20°C保存备用, 若不能及时做下游实验, 洗脱产物置于-70°C以下保存。

## 自动化操作 (与CWE2100匹配)

### 1. (上接样本前处理) 按下表向96 DW深孔板中加入试剂:

位置	试剂及用量
1&7列	上清液: All Buffer PA: 350 $\mu$ L Magbeads PN: 20 $\mu$ L
2&8列	Buffer PGW1: 500 $\mu$ L
3&9列	DNase I: 80 $\mu$ L
4&10列	Buffer RW2: 700 $\mu$ L
5&11列	Buffer RW2: 700 $\mu$ L
6&12列	RNase-Free Water: 100 $\mu$ L

- 将96 DW深孔板以及磁棒套放于CWE2100仪器中，运行“Plant RNA”程序。约35 min后程序运行结束，取出磁套和深孔板。将6&12列中的洗脱产物转移至1.5 mL离心管（自备）中，-20℃保存备用，若不能及时做下游实验，洗脱产物置于-70℃以下保存。

### 自动化操作（与CWE960匹配）

- （上接样本前处理）按下表向96 DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
Plate 1	上清液: All Buffer PA: 350 $\mu$ L Magbeads PN: 20 $\mu$ L
Plate 2	Buffer PGW1: 500 $\mu$ L
Plate 3	DNase I: 80 $\mu$ L
Plate 4	Buffer RW2: 700 $\mu$ L
Plate 5	Buffer RW2: 700 $\mu$ L
Plate 6	RNase-Free Water: 100 $\mu$ L

- 将96 DW深孔板以及磁棒套放于CWE960仪器中，运行“Plant RNA”程序。约35 min后程序运行结束，取出磁套和深孔板。将Plate 6中的洗脱产物转移至1.5 mL离心管（自备）中，-20℃保存备用，若不能及时做下游实验，洗脱产物置于-70℃以下保存。