AFTMag Quick Model Plant RNA Extraction Kit (Prepackaged)

产品目录号：RK30162

产品组分

- **适用于 S-16/S-48 自动核酸提取仪**

组分名称	组分编号	规格 16 RXN	保存条件
Mag Buffer RLC	RM30306	15 mL	RT
AFTMag Quick Model Plant RNA Extraction Reagents (Prepackaged)	RM30444	16 RXN	RT
Mag Buffer EA	RM30311	2 mL	RT
DNase I, RNase-free (5,000 U/mL)	RM21312	40 μL	-20℃
DNase I Buffer	RM30294	2 × 1 mL	4℃
8-Well Mag-rod Sleeve	RM30277	2 pk	RT

注：预分装试剂 96 孔板已预装 50 μL 的洗脱液 Mag Buffer EA，并备 1 支洗脱液用于分光光度计测定浓度时的空白校准。

- **适用于 N-96/S-96 自动核酸提取仪**

组分名称	组分编号	规格 96 RXN	保存条件
Mag Buffer RLC	RM30306	70 mL	RT
Mag Buffer BDA	RM30307	96 RXN	RT
Mag Buffer WD1	RM30308	96 RXN	RT
Mag Buffer WD2 & Beads	RM30309	96 RXN	RT
Mag Buffer WD2	RM30310	96 RXN	RT
Mag Buffer EA	RM30311	96 RXN	RT
Mag Buffer EA	RM30311	2 mL	RT
DNase I, RNase-free (5,000 U/mL)	RM21312	220 μL	-20℃
DNase I Buffer	RM30294	12.5 mL	4℃
96-Well Mag-rod Sleeve	RM30283	1 pk	RT
96 Deep-Well Plate, U-Bottom, Square Well, 2.2 mL	RM30278	1 pk	RT

注：预分装试剂 96 孔板已预装 50 μL 的洗脱液 Mag Buffer EA，并备 1 支洗脱液用于分光光度计测定浓度时的空白校准。

产品说明

本试剂盒是基于高特异结合力生物纳米磁珠的核酸提取试剂盒，主要原理是利用功能性生物磁珠表面的功能基团，将核酸从样品裂解产物中富集至磁珠表面，并经洗涤液去除蛋白质和其他杂质，再利用磁性分离装置对磁珠进行分离，然后经 DNase I 消化去除 DNA，从而快速分离纯化 RNA。整个过程不需要用到苯酚、氯仿和β-巯基乙醇等有害物质，安全无毒，并且利用具有顺磁性的生物纳米磁珠，适合高通量自动化提取，提取产物可直接用于 RT-PCR、qRT-PCR、芯片分析、二代测序建库、Northern Blot 和分子克隆等下游实验。

储存条件

DNase Ⅰ：-20℃保存；

DNase I Buffer：4℃保存；

其他试剂：常温（10-30℃）保存和运输。

注意事项

1. 本试剂盒提取 RNA 实验中应全程避免 RNase 污染。建议使用高质量的 RNase-free 耗材，注意勤换新手套，避免避免皮肤表面的 RNase 导致样品 RNA 的降解。
2. 装有磁珠的 96 孔板或试剂瓶使用前一定要充分摇匀。

E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

3. 若提取过程中需要用到其他玻璃器皿，可在 150℃烘烤 4-6 h。
4. 使用前检查试剂的密封状态是否完好，如低温下试剂有沉淀析出，请将试剂在 65℃烘箱放置 30 min 左右，混匀澄清后使用。注意，放进烘箱的试剂请保持密封状态，预分装试剂不要撕开铝膜。
5. 磁珠需充分晾干，否则会影响 A260 与 A230 的比值。
6. 提取 RNA 请尽量使用新鲜样本，冻存样本应避免反复冻融。

样本类型

样本类型	适用植物种类
根、茎、叶	水稻、小麦、玉米、拟南芥、大豆、马铃薯、烟草、番茄、芝麻、黄瓜、绿萝等
种子	大豆、绿豆
果肉	番茄、柑橘
果皮	柠檬
真菌	平菇、香菇、蘑菇、金针菇

操作说明

实验准备

根据样品数量，配制相应体积的 DNase I 反应混合液（（每个反应配制用量如下表所示，一般会配制（样品数量+1）管的总量），分装到相应工位的深孔板中或者放到冰上/4℃冰箱待用（手工提取）。DNase I 反应混合液现配现用，避免酶活性丧失。

表 1. DNase I 反应混合液配制体系

组分	每个反应用量
DNase I, RNase-free (5,000 U/mL)	2 µL
DNase I Buffer	98 µL

样本裂解

- 幼嫩植物根、茎、叶及黄化苗样本适用液氮研磨和湿磨。
- 植物种子样本、较老的根、茎、叶适用液氮研钵研磨和液氮自动研磨（大量组织、硬组织、含水量高组织）。种子较小可以适用液氮自动研磨（小量组织）。
- 植物果肉、果皮适用液氮研钵研磨和液氮自动研磨（大量组织、硬组织、含水量高组织）。
- 真菌类样本如平菇、香菇和金针菇适用液氮研钵研磨和液氮自动研磨（大量组织、硬组织、含水量高组织）。

注：若样本较为复杂（如果实样本、较老的叶片样本），或初次提取效果不佳，可在裂解时加入 CY Reagent（RM30325）15-20 µL。

1. 液氮研磨裂解

(1) 研磨

a. **研钵**：将植物样本处理成小块放入研钵，并全程在液氮浸泡条件下，使用研磨杵用力将植物组织研磨至细粉状。

b. **研磨棒**：将植物样本处理成小块放入 1.5 mL 离心管中，然后浸泡在液氮中。使用液氮预冷的研磨棒旋转研磨样本，直到植物样本呈细粉状。

c. **自动研磨（小量组织）**：将植物样本放入含 3 颗 3 mm 钢珠的 2 mL 离心管中，盖紧盖子放入液氮中冷冻 30 s，同时将研磨仪的适配器放入液氮冷冻 30 s。使用研磨仪 60 Hz，30 s 研磨 3 次，每次研磨暂停后液氮冷冻 30 s 再继续研磨。

d. **自动研磨（大量组织、硬组织、含水量高组织）**：使用 15/30/50 mL 规格的钢罐与适配的研磨仪进行。先将钢罐放在液氮中预冷，然后将植物样本放进钢罐中，拧紧钢罐再次液氮冷冻 30 s 后放入研磨仪，60 Hz，30 s 研磨 3 次，每次研磨暂停后液氮冷冻 30 s 再继续研磨。

注：研磨完后迅速转移至液氮预冷的保存管中，需要长期保存放置于-80 ℃冰箱中，立即开展提取实验则放置在液氮中。

(2) 裂解

a. 准备无酶的 1.5 mL 离心管，液氮预冷后分装研磨好的粉末，并依据表 2 推荐加入 **Mag Buffer RLC**。涡旋振荡器充分振荡 3 min，室温静置裂解 10 min。

E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

b. 15,000 rpm，4℃离心 5-10 min。离心后，将离心管取出放置在冰上，待准备好提取试剂后，取上清 500 μL 转移至 **16 RXN-布板的第 1/7 列（S-16/S-48 提取仪）**或 **96 RXN-工位 1 对应的 96 孔板中（S-96/N-96 提取仪）**上机提取或离心管手动提取。

表 2. 不同样本投入量裂解液推荐用量

样本量（mg）	Mag Buffer RLC（μL）
25-100	550
100-200	700
200-300	1000
*种子 10-25	1000
*果肉 100-300	550

2. 湿磨裂解（仅新鲜样本）

a. 将植物样本放入含 3 颗 4-5 mm 钢珠的 2 mL 离心管中，依据表 2 推荐加入 **Mag Buffer RLC**。使用研磨仪 70 Hz 运行 5 min。

b. 15,000 rpm，4℃离心 5-10 min。离心后，将离心管取出放置在冰上，待准备好提取试剂后，取上清 500 μL 转移至 **16 RXN-布板的第 1/7 列（S-16/S-48 提取仪）**或 **96 RXN-工位 1 对应的 96 孔板中（S-96/N-96 提取仪）**上机提取或离心管手动提取。

3. 直接裂解（植物原生质体）

100 g soft 模式离心 2 min 后小心弃掉细胞上清，加入 400 μL **Mag Buffer RLC**，振荡混匀 1-2 min，室温静置裂解 5-10 min。无需离心，将裂解产物全部用于提取。

自动提取

1. 打开仪器电源，待仪器完成自检后，按对应的仪器型号设置程序参数（详见表 4-6）。
2. 预分装试剂：轻甩孔板，使试剂和磁珠集中到孔板底部（也可用孔板离心机，500 rpm 离心 1 min）。小心撕去封口膜（避免孔板振动，液体溅出），将配制好的 **DNase I 反应混合液**加入至 **16 RXN-布板的第 6/12 列（S-16/S-48 提取仪）**或 **96 RXN-工位 4 对应的 96 孔板（S-96/N-96 提取仪）**中，每孔 100 μL。
3. 非预分装试剂：请预先将各组分（使用前务必充分摇匀）按照下表进行分装并做好标记。

表 3. 不同试剂分装量及对应布板位/工位

组分名称	试剂分装量	96 RXN-工位	16 RXN-布板
Mag Buffer BDA	400 μL	工位 1	第 1/7 列
Mag Buffer WD1	700 μL	工位 2	第 2/8 列
Mag Buffer WD2＆Beads	700 μL	工位 3	第 3/9 列
DNase I 反应混合液	100 μL	工位 4	第 6/12 列
Mag Buffer WD2	700 μL	工位 5	第 4/10 列
Mag Buffer EA	50-100 μL	工位 6	第 5/11 列

4. 取 500 μL 离心后的样本上清转移至 **16 RXN-布板的第 1/7 列（S-16/S-48 提取仪）**或 **96 RXN-工位 1 对应的 96 孔板中（S-96/N-96 提取仪）**。
5. 将 96 孔板放入仪器对应卡槽中，插入磁棒套，关闭舱门，开始运行程序。
6. 程序结束后，仪器会自动停止，**16 RXN-布板的第 5/11 列孔（S-16/S-48 提取仪）**或 **96 RXN-工位 6 的 96 孔板（S-96/N-96 提取仪）**中产物即为提取的核酸样品，将样品转移至 RNase-free 的干净离心管中，-20℃短期保存，-80℃长期保存。

E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126
For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.

各型号仪器提取程序

表 4. S-96 全自动核酸提取仪参考程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七	八
工位	3	1	2	3	4	5	6	5
等待时间	0:0:0	0:0:0	0:0:0	0:0:0	0:0:15	0:0:0	0:2:0	0:0:0
混合时间	0:0:10	0:5:0	0:2:0	0:2:0	0:15:0	0:2:0	0:3:30	0:0:20
混合速度	6	1	6	6	1	6	2	6
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:50	1:0	0:30	0:30	0:55	0:30	1:0	0:0
裂解温度℃：25.0			洗脱温度℃：65				4 ℃保存：0:0	

表 5. N-96 全自动核酸提取仪参考程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七	八
工位	3	1	2	3	4	5	6	5
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:15	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	6	1	6	6	1	6	2	6
混合时间	00:00:10	00:05:00	00:02:00	00:02:00	00:15:00	00:02:00	00:03:30	00:00:20
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:00:50	00:01:00	00:00:30	00:00:30	00:00:55	00:00:30	00:01:00	00:00:00
体积	700 μL	900 μL	700 μL	700 μL	100 μL	700 μL	100 μL	700 μL
温度	--	25℃	--	--	--	--	65℃	--

表 6. S-16/S-48 全自动核酸提取仪参考程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七	八
工位	3	1	2	3	6	4	5	4
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:15	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	3	1	3	3	1	3	2	3
混合时间	00:00:10	00:05:00	00:02:00	00:02:00	00:15:00	00:02:00	00:03:30	00:00:20
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:00:50	00:01:00	00:00:30	00:00:30	00:00:55	00:00:30	00:01:00	00:00:00
体积	700 μL	900 μL	700 μL	700 μL	100 μL	700 μL	100 μL	700 μL
温度	--	25℃	--	--	--	--	65℃	--

E-mail：cn.market@abclonal.com
TEL：400-999-6126

For research purposes only. Not for therapeutic or diagnostic purposes.
Please visit http://abclonal.com.cn for a complete listing of recommended products.