

手动提取:

- a. 将搅拌套插入深孔板的第 1 (7) 列, 上下震荡混匀 10min。然后将磁棒插入搅拌套中, 上下慢速移动吸取磁珠 1min。
- b. 拔出磁棒, 将搅拌套插入到深孔板第 2 (8) 列, 上下震荡混匀 5min。然后将磁棒插入搅拌套中, 上下慢速移动吸取磁珠 1min。
- c. 拔出磁棒, 将搅拌套插入到深孔板第 3 (9) 列, 上下震荡混匀 3min。然后将磁棒插入搅拌套中, 上下慢速移动吸取磁珠 1min。
- d. 拔出磁棒, 将搅拌套插入到深孔板第 4 (10) 列, 上下震荡混匀 2min。然后将磁棒插入搅拌套中, 上下慢速移动吸取磁珠 45s。
- e. 将磁棒和搅拌套共同插入深孔板第 5 (11) 列, 上下缓慢移动 1min。
- f. 将搅拌套插入深孔板第 6 (12) 列, 上下震荡 5min, 洗脱核酸。然后将棒插入搅拌套中, 上下慢速移动吸取磁珠 1min。将深孔板的第 6 列和第 12 列中的核酸溶液转移至 RNase free 离心管中。

一般实验室使用, 仅用于 *体外*

磁珠法植物总RNA提取试剂盒

目录号: AU3402 50次

使用手册

2015年5月, 第1版



北京百泰克生物技术有限公司

Bioteke Corporation

一、试剂盒组成、储存、稳定性

序号	试剂盒组成	保存	50 次 AU3402
1	无水乙醇	室温	23ml
2	去蛋白 RE	室温	35ml
3	漂洗液 RW	室温	70ml
4	RNase-free H ₂ O	室温	30ml
5	2 号磁珠	室温	1ml
6	裂解液 RL	4℃ 避光	55ml

本试剂盒 1-4 号试剂在室温储存 12 个月不影响使用效果；裂解液 RL 4℃ 保存，2 号磁珠必须保存 4℃ 以上。

注意事项（实验前必须首先阅读这部分！）

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
2. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机，如 Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
3. 试剂板请室温保存，禁止放到冷冻冰箱。

二、操作步骤

1. 匀浆处理: 用玻璃或强力匀浆器搅匀组织样品，保存于液氮内样品需要用研钵磨碎，每 50~100mg 组织加 1ml 的裂解液 RL。
2. 将匀浆样品剧烈震荡混匀，在 15 -30℃ 条件下孵育 5 分钟以使核蛋白体完全分解。
3. 4℃ 的条件下 12,000rpm 离心 10 分钟，小心取上清转入一个新的 RNase free 的离心管中。
4. 每 1ml RL 加 0.2ml 氯仿。盖紧样品管盖，剧烈振荡 15 秒并将其在室

温下孵育 3 分钟。

5. 于 4℃ 12,000rpm 离心 10 分钟，样品会分成三层：下层有机相，中间层和上层无色的水相，RNA 存在于水相中。取 450ul 上清转移到深孔板第 1、7 列。
6. 在深孔板第 1 列和第 7 列加入 20ul 磁珠；以下分为上机和手动提取。

上机提取：

- a. 将深孔板平稳的放置到核酸自动提取仪中，然后将搅拌套插入到卡槽中。
- b. 运行以下程序

步骤	孔位	名称	等待时间 (min)	混合时间 (min)	磁吸时间 (s)	混合速度	容积	运行状态
1	1	吸附核酸	0	10	60	慢	600	否
2	2	去蛋白	0	5	60	慢	400	否
3	3	漂洗	0	3	60	中	400	否
4	4	漂洗	0	2	45	中	400	否
5	5	漂洗	0	0	60	中	400	否
6	6	洗脱	0	5	60	中	200	否
7	2	弃磁珠	0	0	0	慢	0	否

- c. 运行结束后，小心取出搅拌套和深孔板，将深孔板的第 6 列和第 12 列中的核酸溶液转移至 RNase free 离心管中。