

## MagPure Total RNA Kit

### 磁珠法 RNA 提取试剂盒

本产品为培养细胞、组织、血液等生物样品的总 RNA 提取提供了一个简单快速的解决方案。试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 60 分钟。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR，荧光定量、二代测序、病毒 RNA 检测等实验。

产品基于高结合力的纳米磁性粒子的纯化方式。样品在裂解液和蛋白酶的作用下裂解消化，RNA/DNA 释放到裂解液中。加入结合液和磁性粒子吸附 RNA/DNA，而蛋白质则不被吸附而去除。吸附了 DNA/RNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和其它杂质，再经含乙醇洗涤去除盐分，然后加入 DNase 消化去除 DNA，加入结合液回收 RNA，最后 RNA 被低盐缓冲液洗脱。洗脱的 RNA 可直接用于 RT-PCR、病毒检测等实验。

#### 产品组份：瓶装试剂

产品编号	R6622-00	R6622-01	R6622-02	R6622-03
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
Proteinase K Solution	0.6 ml	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
DNase I	300 $\mu$ l	600 $\mu$ l	2 x 600 $\mu$ l	10 x 600 $\mu$ l
DNase Buffer	15 ml	15 ml	30 ml	150 ml
MagPure Particles	1.2 ml	1.6 ml	3.5 ml	17 ml
Buffer RTL	15 ml	30 ml	60 ml	300 ml
Buffer MCB*	15 ml	30 ml	60 ml	300 ml
Buffer MW1*	13 ml	22 ml	44 ml	220 ml
Buffer MW2*	10 ml	20 ml	50 ml	2 x 100 ml
RNase Free Water	10 ml	10 ml	20 ml	60 ml

#### 保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K Solution 和 MagPure Particles 保存于 2-8℃，DNase I 保存于 -20℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

## 产品组份：预分装试剂

货号	试剂组份与装量	R6622-TL-06	R6622-S-48
Proteinase K Solution		2.5 ml	1.2 ml
DNase I		2 x 600 $\mu$ l	600 $\mu$ l
DNase Buffer		30 ml	15 ml
Buffer RTL		60 ml	30 ml
Buffer MLBN		70 ml	40 ml
DA-Tip		12 个	24 个
尖底板/ 试剂条	第 1/7 排孔: 500 $\mu$ l Buffer MCB	6 块	48 条
	第 2/8 排孔: 500 $\mu$ l 洗涤液 MW1		
	第 3/9 排孔: 空		
	第 4/10 排孔: 500 $\mu$ l Buffer MW2 30 $\mu$ l MagPure Particles		
	第 5/11 排孔: 500 $\mu$ l Buffer MW2		
	第 6/12 排孔: 70 $\mu$ l RNase Free Water		

## 保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K Solution 和 MagPure Particles 保存于 2-8 $^{\circ}$ C，DNase I 保存于 -20 $^{\circ}$ C，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

## 第一部分：样品的裂解和消化

- **组织**：称取不超过 20mg 组织至 1.5ml 离心管中，加入 600 $\mu$ l 消化液 RTL 进行匀浆。室温下，14,000 x g 离心 3 分钟，转移 500 $\mu$ l 上清液至新的离心管中。
- **悬浮细胞(不超过 5x10<sup>6</sup>)**：取适量培养液至离心管中，500 x g 离心 10 分钟收集细胞，彻底去除培养基。涡旋或弹打松散细胞，加入 550 $\mu$ l 消化液 RTL，用移液枪吸打数次，消化液比较粘稠时，用 1ml 注射器吸打 3-5 次打断基因组，降低粘度。
- **贴壁细胞**：彻底吸去培养基，加入 550 $\mu$ l 消化液 RTL，用移液枪吸打数次让细胞脱落，转移消化液至 1.5ml 离心管中。消化液比较粘稠时，用移液器反复吸打 3-5 次打断基因组，降低粘度。

- **全血:** 取 1ml 新鲜血液, 用淋巴细胞分离液或红细胞消化液分离出淋巴细胞, 吸弃溶液后, 余~30 $\mu$ l 残液, 涡旋打散淋巴细胞, 加入 550 $\mu$ l 消化液 RTL, 用移液枪反复吸打数次, 消化液比较粘稠时, 用 1ml 注射器吸打 3-5 次打断基因组, 降低粘度。
- **骨髓:** 取 0.1ml 骨髓, 加入 500 $\mu$ l 消化液 RTL, 用移液枪反复吸打数次, 若消化液粘稠, 再用 1ml 注射器吸打 3-5 次打断基因组, 降低粘度。
- **穿刺液:** 取不超过 50 $\mu$ l 体液或穿刺液至 1.5ml 离心管中, 加入 500 $\mu$ l 消化液 RTL 至样品中, 用移液枪吸打数次。
- **Trizol/MagZol Reagent 前处理:** 按 Trizol/Magzol Reagent 的说明书, 对样品进行匀浆裂解, 加入氯仿抽提, 离心后, 取 500 $\mu$ l 上清液, 按第二步部分进行操作。

## 第二部分: 单管操作

1. 在 1.5ml 离心管中, 加入 500 $\mu$ l Buffer MCB 和 30 $\mu$ l MagPure Particles, 然后加入 500 $\mu$ l 匀浆液, 颠倒混匀 15~20 次。
2. 加入 15 $\mu$ l Proteinase K Solution, 涡旋混匀 10 秒, 室温放置 10 分钟, 其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 2 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
3. 加入 500 $\mu$ l Buffer MW1, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
4. 加入 500 $\mu$ l Buffer MW2, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。短暂离心收集管壁上的液滴, 吸弃所有溶液, 空气干燥 5 分钟。
5. 加入 300 $\mu$ l DNase Mixture (285 $\mu$ l DNase Buffer + 10 $\mu$ l DNase I + 5 $\mu$ l Proteinase K) 至样品中, 室温轻轻振荡温育 15 分钟消化去除 DNA。
6. 加入 450 $\mu$ l Buffer MCB 至样品, 涡旋混匀 15 秒。室温静置 6 分钟, 其间混匀 2~3 次。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
7. 加入 500 $\mu$ l Buffer MW2, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
8. 加入 500 $\mu$ l Buffer MW2, 涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
9. 短暂离心, 收集管壁上的液滴, 吸弃所有的溶液。室温干燥 10 分钟。
10. 加入 30~100 $\mu$ l RNase Free Water 至磁珠中, 涡旋打散磁珠。室温静置 3 分钟, 转移至磁力架上吸附 3 分钟, 转移 RNA 至新的 1.5ml 离心管, 进行后续实验或 -20~8 $^{\circ}$ C 保存。

### 第三部分： 32/48 通道核酸提取仪操作

1. 瓶装试剂：按预分装试剂表格所示，按各种试剂分装至 96 孔板的对应孔中。  
预分装试剂：颠倒 96 孔板让磁珠充分悬浮，正放 1 分钟后，去除封口袋和封口膜。
2. 在第 1/7 排孔中，加入 15 $\mu$ l Proteinase K 和 400~500 $\mu$ l 裂解液（第一部分进行操作）。
3. 在第 3/9 排孔中，加入 300 $\mu$ l DNase 混和液(285 $\mu$ l DNase Buffer +10 $\mu$ l DNase I +5 $\mu$ l Proteinase k)。
4. 把磁力外套插到仪器中，把 96 孔板放到仪器中(A1 孔按左内角放置)。
5. 编写程序，并启动对应程序。

序号	步骤名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	吸磁	4	500	20s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合1	1	900	400s	7	0	0	90s	30	30	自动	/	/
3	清洗1	2	500	120s	8	0	0	90s	10	10	自动	/	/
4	干燥	2	500	0	8	3min		0	0	0	自动	/	/
5	酶解	3	250	720s	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
6	暂停	3	250	0	0	暂停		0	0	0	自动	/	/
7	结合2	3	800	400s	8	0	0	90s	30	30	自动	/	/
8	清洗2	4	500	60s	8	0	0	90s	10	10	自动	/	/
9	清洗3	5	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
10	干燥	5	500	0	8	5min		0	0	0	自动	/	/
11	洗脱	6	100	240s	8	0	0	60s	0	50	自动	/	/
12	弃磁	5	700	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

6. 约 30 分钟，提取暂停。取出 96 孔板，在第 3/9 排孔中，加入 500 $\mu$ l Buffer MLBN。
7. 继续执行程序，约 30 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
8. 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ C。