

MagPure Universal RNA Kit B

磁珠法通用 RNA 提取试剂盒 B

本产品为培养细胞、组织、血液、植物、真菌、细菌等生物样品的总 RNA 提取提供了一个自动化解决方案。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（MagZol Reagent）的作用下裂解消化，RNA/DNA 释放到裂解液中，加入氯仿(或 BCP)抽提去除基因组 DNA 和蛋白质后，加入结合液和磁性粒子吸附 RNA，而蛋白质则不被吸附而去除。吸附了 RNA 的粒子经 DNase I 消化进一步去除 DNA 后，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，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	R6623-01B	R6623-02B	R6623-03B
纯化次数	48 次	96 次	480 次
DNase I	600 μ l	2 x 600 μ l	10 x 600 μ l
DNase Buffer C	30 ml	60 ml	250 ml
MagPure Particles N	1.7 ml	3.5 ml	17 ml
MagZol Reagent	60 ml	120 ml	2 x 250 ml
Buffer BCP	10 ml	15 ml	60 ml
Buffer GW1 *	22 ml	44 ml	2 x 66 ml
Buffer MW2 *	20 ml	50 ml	3 x 50 ml
RNase Free Water	15 ml	30 ml	150 ml

保 存 条 件

本产品室温运输，长期保存时，把 Buffer BCP，MagZol Reagent 和 MagPure Particles N 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

● 瓶装试剂

货号	预分装试剂和装量	R6623B-TL-06	R6623B-S-48
DNase I		2 x 600 µl	600 µl
MagZol Reagent		120 ml	60 ml
Buffer BCP		12 ml	6 ml
DA-Tip (磁套)		12个	24个
尖底板 试剂条	第1/7排孔: 500µl 无水乙醇	6 块	48 条
	第2/8排孔: 500µl DNase Buffer C 20µl 磁珠液MPN		
	第3/9排孔: 500µl 洗涤液GW1		
	第4/10排孔: 500µl 洗涤液MW2		
	第5/11排孔: 500µl 洗涤液MW2		
	第6/12排孔: 70µl RNase Free Water		

【储存条件及有效期】

本产品室温运输，长期保存时，把 MagZol Reagent 和 Buffer BCP 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。

第一部分：样品的裂解和消化

1. 根据样品类型进行匀浆和裂解。
- 动物组织: 称取 10-50mg 组织块到离心管中，加入 1ml MagZol Reagent 或 Trizol Reagent，用研磨杵或匀浆器进行充分匀浆。
- 植物组织: 用液氮将植物样品磨成粉末状，称取 30~100mg 的样品至离心管中，立即加入 1ml MagZol Reagent 或 Trizol Reagent，涡旋充分打散样品。
- 贴壁细胞: 彻底去除培养液，对 10cm² 培养面积，加入 1ml MagZol Reagent 或 Trizol Reagent，移液枪吸打 3-5 次，让细胞充分裂解。
- 悬浮细胞: 500 x g 离心收集细胞[<5 x 10⁶ 细胞]，去除培养液。涡旋或用手指弹打松散细胞团。加入 1ml MagZol Reagent 或 Trizol Reagent，移液枪吸打 3-5 次让细胞充分裂解。

- **全血/骨髓:** 取~1ml 全血或 0.5ml 骨髓, 用淋巴细胞分离液或红细胞裂解液分离得到淋巴细胞, 余下 50~100 μ l 残液和沉淀, 涡旋打散沉淀。加入 1ml MagZol Reagent 或 Trizol Reagent, 移液枪吸打 3-5 次让细胞充分裂解。

处理部分骨髓时含有大量的淋巴细胞沉淀, 在分离淋巴细胞倒弃上清液时, 可目测观察和控制淋巴细胞使用量, 当淋巴细胞太多时重悬后, 吸走多余的细胞, 余下适量的细胞悬液 (30~100 μ l) 进行 RNA 抽提, 对骨髓样品进行白细胞沉淀的控制是必须的, 过多的白细胞可能会引起裂解液过于粘稠或提取质量下降。
 - **细菌:** 离心收集(1×10^8 细菌), 加入 100 μ l TE/lysozyme 处理 10 分钟, 然后加入 1ml MagZol Reagent 或 Trizol Reagent, 涡旋 1 分钟。
 - **微量真菌:** 转移<10mg 真菌样品至 2ml 真菌/细菌匀浆管中, 加入 1ml MagZol Reagent 或 Trizol Reagent, 高速涡旋 5-10 分钟裂解真菌。
2. 按 1ml MagZol™ Reagent, 加入 100 μ l Buffer BCP 至裂解液中, 用手剧烈振荡 15 秒, 室温放置 3 分钟。

氯仿是易制毒危险品, 是国家管制化学品, 用 Buffer BCP 代替, 这一步振荡必须快速而剧烈, 缓慢颠倒混匀会导致抽提不充分。不能用涡旋取代振荡, 涡旋混匀会带来更多的 DNA 污染。
 3. 4°C, 12,000 $\times$ g 离心 15 分钟, 得上清液待用, 按第二/三部分进行操作。

第二部分: 单管操作

1. 在 1.5ml 离心管中, 加入 350 μ l 异丙醇和 20 μ l MagPure Particles N, 然后加入 500 μ l 匀浆液, 颠倒混匀 15~20 次。室温放置 5 分钟, 其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 2 分钟, 吸弃溶液。短暂离心, 吸弃所有溶液。
2. 加入 500 μ l DNase Buffer C 和 10 μ l DNase I 至样品中, 室温轻轻振荡温育 15 分钟消化去除 DNA。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
3. 加入 500 μ l Buffer GW1, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
4. 加入 500 μ l Buffer MW2, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
5. 加入 500 μ l Buffer MW2, 涡旋 10 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, 吸弃所有的溶液。室温干燥 5 分钟。
6. 加入 30~100 μ l RNase Free Water 至样品中, 涡旋打散磁珠。室温静置 5 分钟。转移至磁力架上吸附 3 分钟, 把 RNA 转移至新的离心管中。

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 400~450µl 上清液（第一部分的第 1-3 步进行操作）。
3. 在第 2/8 排孔中，加入 10µl DNase I 至液体中，不要粘附的孔壁上方。
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)。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	2	500	20s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	900	360s	7	0	0	60s	30	30	自动	/	/
3	干燥	2	500	0	8	2min		0	0	0	自动	/	/
4	酶解	2	500	600s	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
5	清洗1	3	500	90s	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
6	清洗2	4	500	60s	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
7	清洗3	5	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
8	干燥	5	500	0	8	3min		0	0	0	自动	/	/
9	洗脱	6	100	200s	8	0	0	60s	0	50	自动	/	/
10	弃磁	5	500	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

5. 继续执行程序，约 40 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
6. 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。