

MagPure Total RNA&DNA Kit

磁珠法 RNA/DNA 共提试剂盒

本产品为培养细胞、组织、微量组织、穿刺组织、血液等生物样品的总核酸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。

产品组份：瓶装试剂

产品编号	R6629-01	R6629-02	R6629-03
纯化次数	48 次	96 次	480 次
DNase I	0.6 ml	2 x 0.6 ml	10 x 0.6 ml
Proteinase K Solution	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
MagPure Particles	3 ml	6.0 ml	26 ml
MagPure Particles N	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
Buffer TL	25 ml	50 ml	230 ml
Buffer MPB	20 ml	40 ml	170 ml
Buffer GW1 *	26 ml	44 ml	220 ml
DNase Buffer C	30 ml	60 ml	270 ml
Buffer MW2 *	25 ml	50 ml	2 x 100 ml
RNase Free Water	14 ml	30 ml	120 ml

保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K Solution 和 MagPure Particles、MagPure Particles N 保存于 2-8℃，DNase I 保存于 -20~8℃，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	R6629-TL-06	R6629-TL8-06	R6629-S-48
纯化次数		6 × 16 人份	6 × 8 人份	1 × 48 人份
Proteinase K Solution		2.5 ml	1.2 ml	1.2 ml
MagPure Particles N		2.5 ml	1.2 ml	1.2 ml
DNase I		2x0.6 ml	0.6 ml	0.6 ml
Buffer TL		60 ml	30 ml	30 ml
DA-Tip		12 个	6 个	24 个
尖底板/ 试剂条	1/7: 300 µl Buffer MPB	6 块	6 块	48 条
	2/8: 750 µl DNase Buffer C			
	50µl MagPure Particles			
	3/9: 800 µl Buffer GW1			
	4/10: 800 µl Buffer MW2			
	5/11: 80 µl RNase Free Water			
	6/12: 80 µl Elution Buffer			

保 存 条 件

本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K Solution 和 MagPure Particles N 保存于 -2~8℃，DNase I 保存于 -20~8℃，其余产品保存于室温，，有效期 12 个月。

第一部分：样品的裂解和消化

- 组织样品(不超过 10mg)**

匀浆：取不超过 10mg 组织，加入 500µl 消化液 TL 和 20µl Proteinase K，用电动匀浆器或玻璃匀浆器进行匀浆，室温放置 15 分钟，取 250~300µl 上清液，按第二/三部分进行操作。

消化：在 2ml 离心管中，加入不超过 10mg 组织块(尽量剪碎)，加入 400µl 消化液 TL 和 20µl Proteinase K，55℃，1500~1800rpm 振荡温育 15 分钟，取 250~300µl 上清液，按第二/三部分进行操作。

微量组织：取微量的组织(不超过 3mg)至 1.5ml 离心管中，加入 300µl 消化液 TL 和 20µl Proteinase K，55℃，600-900rpm 振荡温育 15 分钟。
- 悬浮细胞(不超过 2 × 10⁶)**：500 × g 离心 10 分钟收集细胞，去除培养基，余下不超过 20µl 残液和细胞沉淀。涡旋使细胞松散，加入 300µl 消化液 TL 和 20µl Proteinase K，涡旋混匀。室温放置 15 分钟，按第二/三部分进行操作。
- 贴壁细胞**：吸去全部培养基，加入 300µl 消化液 TL 和 20µl Proteinase K，室温低速振荡 15 分钟，按第二/三部分进行操作。

- **全血：**取 0.5ml 新鲜血液，用淋巴细胞分离液分离出淋巴细胞，吸弃上清液，余~20 μ l 残液和细胞沉淀。涡旋松散细胞，加入 300 μ l 消化液 TL 和 20 μ l Proteinase K，涡旋混匀 10-15 秒，室温放置 15 分钟。
- **骨髓或白膜层：**取 50~100 μ l 骨髓或 100 μ l 白膜层，加入 200 μ l 消化液 TL 和 20 μ l Proteinase K，涡旋混匀 5-10 秒，室温放置 15 分钟。若裂解液较为粘稠时，加入更多的消化液 TL。
- **穿刺液：**取不超过 100 μ l 体液或穿刺液至 1.5ml 离心管中，补消化液 TL 至 300 μ l，涡旋混匀，然后加入 20 μ l Proteinase K，涡旋混匀 5 秒，室温放置 15 分钟。

第二部分：单管操作

1. 取 250 μ l 匀浆液和 300 μ l Buffer MPB 至 1.5ml 离心管，涡旋混匀，55 $^{\circ}$ C 振荡 3-5 分钟。
2. 加入 50 μ l MagPure Particles 至样品中，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 2 分钟，转移上清液至新的离心管中，按第 8 步进行 RNA 提取。
3. 加入 500 μ l Buffer GW1，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 μ 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。
5. 加入 500 μ 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。
6. 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。
7. 加入 50~100 μ l RNase Free Water 至样品中，涡旋打散磁珠。55 $^{\circ}$ C 振荡温育 10 分钟，转移至磁力架上放置 2 分钟，转移 DNA 于新的离心管中。
8. 取第 2 步的上清液，加入 20 μ l MagPure Particles N 和 350 μ l 异丙醇，颠倒混匀 15-30 次，放置 5 分钟，其间再颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 2 分钟，吸弃全部上清液。短暂离心，吸弃全部残液。
9. 加入 500 μ l DNase Buffer C 和 10 μ l DNase I，室温 800~900rpm 振荡温育 15 分钟消化 DNA。转移至磁力架上吸附 2 分钟，吸弃全部上清液。
10. 加入 500 μ l Buffer GW1，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
11. 加入 500 μ 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。
12. 加入 500 μ 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。
13. 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。
14. 加入 50 μ l RNase Free Water 至样品中，涡旋打散磁珠。室温放置 3-5 分钟，转移至磁力架上放置 2 分钟，转移 RNA 于新的离心管中。

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. 转移 250~300µl 裂解液至第 1/7 排孔中。
3. 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。
4. 约 20 分钟后暂停，加入 20µl MagPure Particles NI 和 350µl 异丙醇至第 1/7 孔中， 加入 10µl DNase I 至第 2/8 排孔中。
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(第 5/11) 和 DNA(第 6/12) 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~-8℃。

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	裂解	1	600	120s	8	0	0	0	0	0	自动	1	55
2	吸磁	2	800	10s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
3	结合	1	600	180s	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
4	清洗1	3	800	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	清洗2	4	800	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	干燥	6	100	0	8	4 min		0	0	0	自动	/	/
7	洗脱1	6	100	120s	9	0	0	0	0	0	自动	6	55
8	暂停	1	600	0	8	暂停		0	0	0	自动	/	/
9	结合2	1	950	300s	7	0	0	90s	15	30	自动	/	/
10	清洗1	2	500	600s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
11	清洗2	3	850	90s	8	0	0	60s	20	20	自动	/	/
12	清洗3	4	850	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
13	干燥	5	100	0	8	2min		0	0	0	自动	/	/
14	洗脱1	5	100	240s	8	0	0	60s	0	30	自动	/	/
15	弃磁	4	850	30s	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
16	洗脱2	6	100	300s	8	0	0	60s	0	30	自动	/	55
17	弃磁	4	850	30s	8	0	0	0	0	0	自动	/	/