

MagPure Total RNA/DNA Mini Kit

磁珠法 RNA/DNA 小量共提试剂盒

本产品为培养细胞、组织、血液等生物样品的总 RNA/DNA 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。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，最后 DNA/RNA 被低盐缓冲液洗脱。洗脱的 DNA/RNA 可直接用于 RT-PCR、病毒检测等实验。

产 品 组 分：瓶装试剂

产品编号	R6632-01	R6632-02	R6632-03
纯化次数	48 次	96 次	480 次
MagPure Particles	3 ml	6.0 ml	30 ml
Bind Beads	30 ml	50 ml	220 ml
Proteinase K Solution	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
Buffer RTL	30 ml	60 ml	270 ml
DNA Enhancer Buffer	15 ml	30 ml	120 ml
DNase I	600 μ l	2 x 600 μ l	10 x 600 μ l
DNase Buffer C	30 ml	60 ml	270 ml
Buffer GW1 *	26 ml	44 ml	220 ml
Buffer MW2 *	25 ml	50 ml	2 x 100 ml
Elution Buffer	6 ml	15 ml	60 ml
RNase Free Water	6 ml	15 ml	60 ml

保 存 条 件 收到产品后，Proteinase K Solution 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。

准 备 工 作 在 Buffer GW1/Buffer MW2 中，加适量体积无水乙醇，于室温保存。

产品组分：预分装试剂

货号		试剂组份与装量	R6632-TL-06	R6632-S-48
Buffer RTL			60 ml	30 ml
Proteinase K Solution			2.5 ml	1.2 ml
DNase I			2 x 600 µl	600 µl
Bind Beads			6 ml	3 ml
DA-Tip			12 个	24 个
尖底板 试剂条	1/7: 200 µl DNA Enhancer Buffer		6 块	48 条
	2/8: 800 µl DNase Buffer C&50µl磁珠MP			
	3/9: 850 µl Buffer GW1			
	4/10: 850 µl Buffer MW2			
	5/11: 100 µl RNase Free Water			
	6/12: 100 µl Elution Buffer			

保存条件 收到产品后，Proteinase K Solution 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。

第一部分：样品的裂解和消化

- **动物组织：**称取不超过 15mg 动物组织至 1.5ml 离心管中，加入~500µl 消化液 RTL，用电动研磨器，或玻璃匀浆器，或机械匀浆器将组织块打散和匀浆。
- **植物组织：**用液磨研磨将植物组织研磨成粉末状，转移 50~100mg 粉末至 1.5ml 离心管中，加入 500µl 消化液 RTL/巯基乙醇，涡旋 15 秒打散样品，室温下，13,000 x g 离心 5 分钟。
- **悬浮细胞或脱落细胞(不超过 3x10⁶):** 2,000 x g 离心 5 分钟收集培养细胞或脱落细胞，去除培养基，余下~20µl 残液，涡旋或弹打松散细胞。加入 400µl 消化液 RTL，涡旋 10-15 秒。
- **贴壁细胞不超过 3x10⁶):** 吸去培养基并用 PBS 清洗一次。加入 400µl 消化液 RTL，用移液枪吸打数次让细胞脱落。
- **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~20µl 残液，涡旋打散淋巴细胞，加入 400µl 消化液 RTL，用移液枪反复吸打数次。
- **穿刺液：**取不超过 100µl 体液或穿刺液至 1.5ml 离心管中，加入 400µl 消化液 RTL，涡旋混匀，用移液枪或注射器吸打数次匀浆组织。

第二部分：单管操作

1. 取 400 μ l 匀浆液至 1.5ml 离心管中，加入 150 μ l DNA Enhancer Buffer 和 50 μ l MagPure Particles 和 20 μ l Proteinase K 混匀，55 $^{\circ}$ C 振荡（1200~1500rpm）温育 10 分钟。磁力架吸磁后转移上清液（含 RNA）至新离心管，按第 7-12 步进行 RNA 提取；保留磁珠按第 2-5 步进行 DNA 提取。
2. 加入 500 μ l Buffer GW1，涡旋 10~15 秒，磁力架吸磁后倒弃或吸弃溶液。
3. 加入 500 μ l Buffer MW2，涡旋 10~15 秒，磁力架吸磁后倒弃或吸弃溶液。
4. 加入 500 μ l Buffer MW2，涡旋 10~15 秒，磁力架吸磁后倒弃或吸弃溶液。短暂离心收集管壁上的液滴，吸弃残液，室温干燥 10~15 分钟让乙醇充分挥发。
5. 加入 50~100 μ l Elution Buffer，55 $^{\circ}$ C 振荡[1000~1200rpm]温育 10 分钟溶解 DNA。短暂离心，吸磁后转移 DNA 于新的离心管中，待用或保存于-20 $^{\circ}$ C。
6. 加入 380 μ l Bind Beads 至上清液（第 1 步），颠倒 15~30 次，放置 5 分钟，其间颠倒混匀数次。磁力架吸磁后倒弃溶液，瞬离后吸弃残液，室温干燥 5 分钟。
7. 加入 500 μ l DNase Buffer C 和 10 μ l DNase I，室温下 800~900rpm 振荡温育 15~20 分钟消化 DNA。磁力架吸磁后倒弃或吸弃溶液。
8. 加入 500 μ l Buffer GW1，涡旋 10~15 秒，磁力架吸磁后倒弃或吸弃溶液。
9. 加入 500 μ l Buffer MW2，涡旋 10~15 秒，磁力架吸磁后倒弃或吸弃溶液。
10. 加入 500 μ l Buffer MW2，涡旋 10~15 秒，磁力架吸磁后倒弃或吸弃溶液。短暂离心后吸弃残液，室温干燥 10 分钟。
11. 加入 40~80 μ l RNase Free Water，室温 900-1000rpm 振荡 5 分钟溶解 RNA。短暂离心，磁力架吸磁后转移 RNA 至新的离心管中，待用或保留于-80 $^{\circ}$ C。

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. 按第一部分准备裂解液，转移 400µl 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]，启动程序。
4. 约 15 分钟后暂停，加入 380µl Bind Beads 至第 1/7 孔中。
5. 加入 10 µl DNase I 至第 2/8 排孔的液体中。
6. 继续执行程序，约 40 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。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℃。

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	800	10	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
2	结合	1	600	420	8	0	0	60	0	0	自动	1	55
3	清洗	3	800	60	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
4	清洗	4	800	60	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
5	干燥	6	100	0	8	5 min		0	0	0	自动	/	/
6	洗脱	6	100	90	8	0	0	0	0	0	自动	6	55
7	暂停	1	600	0	8	暂停		0	0	0	自动	/	/
8	结合	1	950	360	7	0	0	60	20	20	自动	/	/
9	干燥	2	800	0	8	3 min		0	0	0	自动	/	/
10	酶解	2	800	720	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
11	清洗	3	800	90	8	0	0	60	10	10	自动	/	/
12	清洗	4	800	60	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
13	干燥	5	100	0	8	3 min		0	0	0	自动	/	/
14	洗脱	5	100	240	8	0	0	60	0	10	自动	/	/
15	弃磁	4	850	10	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
16	干燥	6	100	0	8	1 min		0	0	0	自动	6	55
17	洗脱	6	100	300	8	0	0	60	0	30	自动	6	55
18	弃磁	3	850	10	8	0	0	0	0	0	自动	/	/