

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	R6623-01B	R6623-02B	R6623-03B
纯化次数	48 次	96 次	480 次
DNase I	600 μ l	2 \times 600 μ l	10 \times 600 μ l
DNase Buffer	20 ml	30 ml	150 ml
MagPure Particles N	1.7 ml	3.5 ml	17 ml
MagZol Reagent	60 ml	120 ml	2 \times 250 ml
Buffer BCP	10 ml	15 ml	60 ml
Buffer ALB2	30 ml	60 ml	300 ml
Buffer MW1 *	44 ml	66 ml	3 \times 110 ml
Buffer MW2 *	20 ml	50 ml	5 \times 50ml
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 $^{\circ}$ C，DNase I 保存于 -20 $^{\circ}$ C，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产品组份

● 瓶装试剂

货号	预分装试剂和装量	R6623B-TL06	R6623B-S-48
DNase I		2 x 600 μ l	600 μ l
DNase Buffer		30 ml	20 ml
MagZol Reagent		120 ml	120 ml
Buffer BCP		5 ml	15 ml
Buffer ALB2		60 ml	30 ml
DA-Tip (磁套)		4个	12个
尖底板 试剂条	第1/7排孔: 400 μ l异丙醇 30 μ l 磁珠液MPN	2 块	6 块
	第2/8排孔: 500 μ l 洗涤液MW1		
	第3/9排孔: 空		
	第4/10排孔: 500 μ l 洗涤液MW2		
	第5/11排孔: 500 μ l 洗涤液MW2		
	第6/12排孔: 80 μ l 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 $^{\circ}$ 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

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 MagZolTM 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 MagZolTM 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 MagZolTM 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 MagZolTM 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 50~100ul 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。
 - **细菌:** 离心收集(1×10^8 细菌), 加入 100ul 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. (可选)按 1ml MagZol™ Reagent, 加入 200ul 氯仿或 100ul 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, 按简易方案进行操作或用 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 x g 离心 15 分钟, 得上清液待用, 按第 2/3 部分进行操作。

第二部分: 单管操作

1. 在 1.5ml 离心管中, 加入 350ul 异丙醇和 30ul MagPure Particles N, 然后加入 500ul 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, 倒弃或吸弃溶液。
2. 加入 500ul 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。短暂离心收集管壁上的液滴, 吸弃所有溶液。空气干燥 2 分钟。
3. 加入 250ul DNase Mixture (240ul DNase Buffer + 10ul DNase I)至样品中, 室温轻轻振荡温育 15 分钟消化去除 DNA。
4. 加入 500ul Buffer ALB2 至样品, 涡旋混匀 15 秒。室温静置 5 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。
5. 加入 500ul 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. 加入 500ul 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, 吸弃所有的溶液。室温干燥 5 分钟。
7. 加入 30~100ul 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

- 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。
- 在第 1/7 排孔中，加入 500 μ l 上清液（方案 1 的第 1-5 步进行操作）。
- 在第 3/9 排孔中，加入 250 μ l DNase 混和液(240 μ l DNase Buffer + 10 μ l DNase I)。
- 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	结合1	1	900	300s	8	0	0	60s	30	30	自动	/	/
2	清洗1	2	500	90s	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
3	干燥	2	500	0	8	2	0	0	0	0	自动	/	/
4	酶解	3	250	600s	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
5	暂停	3	250	0	0	暂停		0	0	0	自动	/	/
6	结合2	3	500	300s	8	0	0	60s	30	30	自动	/	/
7	清洗2	4	500	60s	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
8	清洗3	5	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
9	干燥	5	500	0	8	3	0	0	0	0	自动	/	/
10	洗脱	6	100	240s	8	0	0	60s	0	50	自动	/	/
11	弃磁	5	500	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

- 约 30 分钟，提取暂停。
- 取出 96 孔板，在第 3/9 排孔中，加入 500 μ l Buffer ALB2。
- 继续执行程序，约 30 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
- 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。