

MagPure Total RNA Micro Kit

磁珠法微量 RNA 快提试剂盒

本产品为微量培养细胞、微量组织、穿刺液、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。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	R6621-00	R6621-01	R6621-02	R6621-03
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
Proteinase K Solution	0.6 ml	0.6 ml	1.2 ml	6 ml
DNase I	300 μ l	600 μ l	2 x 600 μ l	10 x 600 μ l
DNase Buffer	15 ml	20 ml	30 ml	150 ml
MagPure Particles N	1.2 ml	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
Buffer RTL	15 ml	30 ml	60 ml	300 ml
Buffer ALB	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 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

- 预分装试剂, 版本, 尖底板

货号	试剂组份与装量	R6621-TL-06	R6621-S-48
Proteinase K Solution		1.2 ml	0.6 ml
DNase I		2 x 600 µl	600 µl
DNase Buffer		40 ml	20 ml
Buffer RTL		60 ml	30 ml
Buffer ALB		60 ml	40 ml
DA-Tip		12 个	24 个
尖底板/ 试剂条	第 1/7 排孔: 450µl 异丙醇 /20µl MPN	6 块	48 条
	第2/8排孔: 450µl 洗涤液 MW1		
	第3/9排孔: 空		
	第4/10排孔: 450µl Buffer MW2		
	第5/11排孔: 450µl Buffer MW2		
	第6/12排孔: 70µl 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 N 保存于 2-8°C, DNase I 保存于 -20°C, 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

准备事项

- 在 Buffer MW1、Buffer MW2 中, 加适量体积无水乙醇, 于室温保存。
- (可选)提升裂解液的变性能力: 使用前分装适量的 Buffer RTL, 按 1ml Buffer RTL 加入 20µl β-巯基乙醇或 2M DTT, 混合液室温可保存 1 周。β-巯基乙醇/DTT 能打断 RNase 分子间的二硫键, 高效灭活 RNASE, 提高 RNA 质量。由于 β-巯基乙醇/DTT 的毒性, 多数情况下, 不添加也可以得到完整的 RNA。

第一部分: 样品的裂解和消化

- **组织:** 取不超过 10mg 组织、穿刺组织至 1.5ml 离心管中, 加入 450µl 消化液 RTL, 用匀浆器进行匀浆。室温下, 14,000 x g 离心 3 分钟。
- **悬浮细胞(不超过 2 x 10⁶):** 取适量培养液至离心管中, 2000xg 离心 5 分钟收集细胞, 彻

底去除培养基。涡旋或弹打松散细胞，加入 450 μ 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(不超过 2×10^6):** 彻底吸去培养基，加入 450 μ 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 1ml 注射器吸打 3-5 次打断基因组，降低粘度。
- **全血:** 取 0.5~1ml 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 μ l 残液，涡旋打散淋巴细胞，加入 450 μ 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 100 μ l 骨髓，加入 400 μ 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 μ l 体液或穿刺液至 1.5ml 离心管中，加入 400 μ l 消化液 RTL 至样品中，用移液枪吸打数次。

第二部分: 单管操作

1. 在 1.5ml 离心管中，加入 450 μ l 异丙醇和 20 μ l MagPure Particles N。
2. 加入 400~500 μ l 匀浆液，颠倒混匀 15-20 次，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 μ l Buffer MW1，涡旋 30 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
4. 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。
5. 加入 250 μ l DNase Mixture (230 μ l DNase Buffer +10 μ l DNase I+10 μ l Proteinase K Solution) 至样品中，室温轻轻振荡温育 10 分钟消化去除 DNA。
6. 加入 500 μ l Buffer ALB 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 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。
8. 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。
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 μ l RNase Free Water 至样品中，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，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 400~500 μ l 裂解液 (见第一部分)。
3. 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+10 μ l Proteinase K Solution)。
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	结合1	1	800	300s	8	0	0	90s	30	30	自动	/	/
2	清洗1	2	500	90s	8	0	0	90s	0	0	自动	/	/
3	干燥	2	500	0	8	90s	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	800	300s	8	0	0	90s	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	/	/

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