

## MagPure Bacterial/Fungal RNA Kit

### 磁珠法微生物 RNA 提取试剂盒

本产品为微生物样品的总 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。

#### 产品组分: 瓶装试剂

产品编号	R6627-00	R6627-01	R6627-02	R6627-03
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
2ml 匀浆管	24	48	96	480
DNase I	300 $\mu$ l	600 $\mu$ l	2 x 600 $\mu$ l	10 x 600 $\mu$ 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 STL	15 ml	30 ml	60 ml	250 ml
Buffer PCI	4 ml	6 ml	15 ml	60 ml
Buffer MLBN	30 ml	60 ml	120 ml	2 x 280 ml
Buffer GW1	13 ml	13 ml	44 ml	110 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，收到产品后，把 DNase I 保存于-20℃，MagPure Particles N 和 Buffer PCI 保存于 2-8℃ 其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

#### 准备事项

- 在 Buffer GW1 和 Buffer MW2 中，加入适量体积无水乙醇，于室温保存。

**产品组分: 32 通道预分装**

货号	试剂组份与装量	R6627-TL-06	R6627-S-48
2ml 匀浆管		96 个	48 个
DNase I		2 x 600 $\mu$ l	600 $\mu$ l
Buffer STL		60 ml	30 ml
Buffer PCI		15 ml	6 ml
DA-Tip		12 个	24 个
尖底板/ 试剂条	1/7 孔: 600 $\mu$ l Buffer MLBN	6 块	48 条
	2/8 孔: 600 $\mu$ l DNase Buffer C		
	3/9 孔: 600 $\mu$ l Buffer GW1		
	4/10 孔: 600 $\mu$ l Buffer MW2 & 20 $\mu$ l MPN		
	5/11 孔: 600 $\mu$ l Buffer MW2		
	6/12 孔: 70 $\mu$ l RNase Free Water		

**产品组分: 96 通道预分装**

货号	试剂组份与装量	R6627-F-96	R6627-F-48
2ml 匀浆管		96 个	48 个
DNase I		2 x 600 $\mu$ l	600 $\mu$ l
Buffer STL		60 ml	30 ml
Buffer PCI		15 ml	6 ml
96-Tip		1 个	1 个
样品板	600 $\mu$ l Buffer MLBN	1 个	1 个
DNA 酶板	600 $\mu$ l DNase Buffer C	1 个	1 个
清洗板 1	600 $\mu$ l Buffer GW1	1 个	1 个
清洗板 2	600 $\mu$ l Buffer MW2 & 20 $\mu$ l MPN	1 个	1 个
清洗板 3	600 $\mu$ l Buffer MW2	1 个	1 个
洗脱板	70 $\mu$ l RNase Free Water	1 个	1 个

**保存条件** 本产品室温运输, 收到产品后, 把 DNase I 保存于-20 $^{\circ}$ C, Buffer PCI 保存于 2-8 $^{\circ}$ C 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

## 第一部分：单管操作

1. 转移适量的 1.0~1.8ml 培养液至 2.0ml 离心管中, 13,000 × g 离心 1 分钟收集微生物细胞, 小心倒弃上清液。
2. 加入 400µl Buffer STL, 涡旋重悬细菌, 然后全部转移至匀浆管中, 然后再加入 0.1ml Buffer PCI, 盖紧盖子。  
Buffer PCI 为酚氯仿, 毒性较强, 也可以不添加。按 1ml Buffer STL 加入 20ul 2-巯基乙醇, 或 20ul 1M TCEP, 或 20ul 1M DTT 来提高 RNA 酶的失活能力, 然后加入 400µl 该混合液重悬细菌。
3. 转移至涡旋仪涡旋 10 分钟或珠磨仪上珠磨 90-120 秒, 13,000 × g 离心 5 分钟。
  - Powerlyzer 珠磨仪: 建议 2000rpm 珠磨 30 秒, 暂停 30 秒, 再 2000rpm 珠磨 30 秒。
  - FastPrep24 珠磨仪: 建议 5m/s, 珠磨 30 秒, 暂停 30 秒, 再 5m/s 珠磨 30 秒。
  - Tissue Lysis II 珠磨仪: 建议 25Hz 珠磨 5 分钟, 重新调整位置后再 25Hz 珠磨 5 分钟。
  - 涡旋仪: 推荐使用美基涡旋仪 MagMix A, 这台涡旋仪带 2ml 离心管的夹具, 可一次高效处理 10~20 个样品。根据样品的不同, 使用涡旋仪时, 珠磨裂解时间增加到 15~30 min 可能是有利的, 可以根据目标菌群特性和下游应用来调整。
4. 转移 300µl 上清液至新的离心管中, 加入 20µl 磁珠液 MPN 和 600µl 消化液 MLBN。颠倒混匀 10-15 次, 室温放置 5~10 分钟, 其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上静置 2 分钟吸附磁珠, 吸弃溶液, 瞬离后吸尽残液, 空气干燥 3 分钟。
5. 加入 500µl 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。短暂离心, 收集管壁上的液滴, 空气干燥 3 分钟。
6. 加入 200µl DNase Buffer 和 10µl DNase I, 涡旋重悬磁珠, 振荡混匀 20 分钟消化。
7. 加入 500µl 消化液 MLBN, 涡旋 10 秒, 室温放置 5 分钟, 其间颠倒混匀数次, 转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
8. 加入 500µl 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。
9. 加入 500µl 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。
10. 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。
11. 加入 50~100µl RNase Free Water, 涡旋打散磁珠, 室温振荡 3~5 分钟。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 转移 RNA 至新的离心管中。

## 第二部分： 32/48/96 通道核酸提取仪操作

1. 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. 第 1/7 排孔（32 通道）或样品板（96 通道），每孔加入 300 $\mu$ l 上清液（见第一部分）。
3. 第 2/8 排孔（32 通道）或 DNA 酶板（96 通道），每孔加入 10 $\mu$ l DNase I。
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。
6. 约 60 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
7. 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ C。

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	4	600	30s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合	1	900	300s	8	0	0	90s	10	10	自动	/	/
3	干燥	2	600	0	8	2 min		0	0	0	自动	/	/
4	酶解	2	600	900s	8	0	0	90	0	0	自动	/	/
5	清洗1	3	600	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗2	4	600	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	清洗3	5	600	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
8	干燥	5	600	0	8	3 min		0	0	0	自动	/	/
9	洗脱	6	100	240s	8	0	0	60s	0	50	自动	/	/
10	弃磁	5	600	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/