

MagPure Total RNA/DNA Kit

磁珠法 RNA/DNA 提取试剂盒

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。

产品组份：瓶装试剂

产品编号	R6631-01	R6631-02	R6631-03
纯化次数	48 次	96 次	480 次
MagPure Particles	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
Proteinase K Solution	0.6 ml	1.2 ml	5.5 ml
Buffer RTL	30 ml	60 ml	270 ml
Buffer MCB	9 ml	18 ml	75 ml
Buffer GW1*	22 ml	44 ml	220 ml
Buffer MW2*	20 ml	50 ml	2 x 100 ml
RNase Free Water	10 ml	20 ml	60 ml

保存条件 本产品室温运输，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。
- 在 Buffer MCB 中，加适量体积异丙醇，于室温保存。

产品组份：预分装试剂

货号	试剂组份与装量	R6631-TL-06	R66310-S-48
Buffer RTL		60 ml	30 ml
Proteinase K		1.2 ml	0.6 ml
DA-Tip		12 个	24 个
尖底板/ 试剂条	第 1/7 排孔：500µl Buffer MCB	6 块	48 条
	第 2/8 排孔：500µl 洗涤液 GW1		
	第 3/9 排孔：500µl 洗涤液 GW1		
	第 4/10 排孔：500µl Buffer MW2 20µl MagPure Particles		
	第 5/11 排孔：500µl Buffer MW2		
	第 6/12 排孔：70µl RNase Free Water		

保存条件 本产品室温运输，有效期 18 个月。

第一部分：样品的裂解和消化

- **组织：**称取不超过 15mg 动物组织或 50-100mg 植物组织至 1.5ml 离心管中，加入 500 μ l 消化液 RTL，用电动匀浆器，或玻璃匀浆器，或机械匀浆器将组织块打散和匀浆，室温下，14,000 x g 离心 3 分钟，转移 400~450 μ l 上清液至新的离心管中。
动物组织或植物组织可以先用液氮研磨成粉末后，然后加入适量的消化液 RTL，涡旋混匀。
- **悬浮细胞(不超过 5x10⁶)：**取适量培养液至离心管中，500 x g 离心 10 分钟收集细胞，去除培养基，余下~20 μ l 残液，涡旋或弹打松散细胞，加入 450 μ l 消化液 RTL，涡旋混匀，若裂解液粘稠时，用 1ml 注射器吸打 5~10 次打断基因组降低粘度。
- **贴壁细胞：**彻底吸去培养基，加入 500 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，用移液器反复吸打 5~10 次打断基因组，降低粘度。
- **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~50 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 0.1ml 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 100 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，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. 在 1.5ml 离心管中，加入 500 μ l Buffer MCB, 10 μ l Proteinase K 和 20 μ l MagPure Particles, 然后加入 400~450 μ l 匀浆液，颠倒混匀 15~30 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。
2. 加入 500 μ l 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。
3. 加入 500 μ l 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。
4. 加入 500 μ l 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。
5. 加入 500 μ l 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。
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。

- 加入 50~100 μ l RNase Free Water，涡旋打散磁珠，室温振荡温育 10~15 分钟溶解 DNA 和 RNA。短暂离心，收集管壁上的液滴，转移至磁力架上吸附 1 分钟。转移 DNA 和 RNA 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 400~450 μ l 裂解液（第一部分进行操作）和 10 μ l Proteinase K。
- 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	吸磁	4	500	20s	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
2	结合	1	900	600s	8	0	0	90	30	30	自动	/	/
3	清洗1	2	500	60s	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
4	清洗2	3	500	60s	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
5	清洗3	4	500	60s	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
6	清洗4	5	500	60s	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
7	干燥	5	500	0	8	6 min		0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	600s	8	0	0	60	0	50	自动	/	/
9	弃磁	5	700	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

- 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 $^{\circ}$ C。