

## MagPure FFPE RNA Kit

### 磁珠法 FFPE RNA 提取试剂盒

本产品为石蜡包埋组织样品 RNA 提取提供了一个简单快速的解决方案。本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 释放到裂解液中。加入结合液和磁性粒子吸附 RNA，而蛋白质则不被吸附而去除。吸附了 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 RNA 被低盐缓冲液(RNase-Free Water)洗脱。洗脱的 RNA 可直接用于 RT-PCR、二代测序等实验。

### 产品组份

- 瓶装试剂

产品编号	R6625-00	R6625-01	R6625-02	R6625-03
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
MagBind Particles	0.6 ml	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
DNase Buffer	6 ml	15 ml	30 ml	120 ml
DNase I	300 $\mu$ l	600 $\mu$ l	2 x 600 $\mu$ l	10 x 600 $\mu$ l
Proteinase K	12 mg	24 mg	50 mg	480 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	1.8ml	3 ml	30 ml
Buffer DPS	30 ml	50 ml	100 ml	450 ml
Buffer FRL	6 ml	15 ml	30 ml	120 ml
Buffer AL	6 ml	15 ml	20 ml	100 ml
Buffer ALB	15 ml	30 ml	50 ml	220 ml
Buffer MW1 *	13 ml	26 ml	66 ml	2 x 176 ml
Buffer MW2 *	20 ml	20 ml	50 ml	2 x 100 ml
RNase-Free Water	10 ml	15 ml	30 ml	120 ml

### 保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K 和 MagBind Particles 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	预分装试剂和装量	R6625-S-48	R6625-TL-06
		48 人份	96 人份
Proteinase K Solution		1.2 ml	2.5 ml
DNase I		0.6 ml	2 × 0.6 ml
DNase Buffer		6 ml	30 ml
Buffer DPS		30 ml	100 ml
Buffer FRL		10 ml	30 ml
Buffer ALB		30 ml	50 ml
DA-Tip		24 个	12 个
2.0ml 尖底板 或尖底试剂条	第1/7排孔: 500µl Buffer ALB	48 条	6 块
	第2/8排孔: 500µl Buffer MW1		
	第3/9排孔: 空		
	第4/10排孔: 500µl Buffer MW2/20µl MB		
	第5/11排孔: 500µl Buffer MW2		
	第6/12排孔: 70µl RNase Free Wwater		

## 保存条件

本产品室温运输, 长期保存时, 把 Proteinase K 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。

## 第一部分: 样品的裂解和消化

1. 去除样品中多余石蜡, 用切片机切出 1~6 片切片, 并转移至 1.5ml 离心管中。
2. **加入 600µl Buffer DPS 至样品中**, 56°C 水浴 6 分钟, 立即涡旋 20 秒让石蜡充分溶解。
3. 14,000 × g 离心 3 分钟让组织块沉淀到管底, 小心吸弃蜡液。  
若样品中石蜡比较多, 吸弃脱蜡液, 然后再重复 2-3 步进行第二步脱蜡。
4. **加入 200µl Buffer FRL 和 20µl Proteinase K, 混匀**, 56°C 温育 15~30 分钟, 80°C 温育 20 分钟。
5. 14,000 × g 离心 1 分钟, 转移 200µl 消化液到新的离心管中。

## 第二部分：单管操作

1. 加入 150 $\mu$ l Buffer AL 至消化液，涡旋混匀 5 秒。
2. 加入 300 $\mu$ l 异丙醇和 20 $\mu$ l MagBind Particles 至样品中，涡旋混匀 10 秒，室温放置 8 分钟，其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 3 分钟，倒弃或吸弃溶液。
3. 加入 500 $\mu$ l Buffer MW1，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。
4. 倒弃或吸弃溶液，短暂离心再吸尽所有的残液，空气干燥 3 分钟。
5. 加入 200 $\mu$ l DNase 混和液(190 $\mu$ l DNase Buffer + 10 $\mu$ l DNase I)至样品中，室温温和振荡 10 分钟消化去除 DNA。
6. 加入 400 $\mu$ l Buffer ALB 至样品，颠倒混匀 10~15 次，室温放置 8 分钟，其间混匀 3~5 次。转移至磁力架上吸附 3 分钟。倒弃或吸弃溶液。
7. 加入 500 $\mu$ l 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。
8. 加入 500 $\mu$ 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. 加入 500 $\mu$ 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。
10. 短暂离心。转移至磁力架上，吸弃所有的溶液。空气干燥 3 分钟。
11. 加入 50 $\mu$ l RNase Free Water 至样品中，涡旋打散磁珠，室温静置 5 分钟，其间振荡混匀数次。
12. 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 200 $\mu$ l 裂解液（方案 1 的第 1-5 步进行操作）。
- 在第 3/9 排孔中，加入 200 $\mu$ l DNase 混和液(190 $\mu$ l DNase Buffer + 10 $\mu$ l DNase II)。
- 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	800	30s	7	0	0	60s	15	15	自动	/	/
2	结合1	1	950	400s	7	0	0	90s	50	50	自动	/	/
3	清洗1	2	500	90s	8	90s/晾干		90s	10	10	自动	/	/
4	酶解	3	300	600s	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
5	暂停	3	300	0	0	暂停		0	0	0	自动	/	/
6	结合2	3	800	400s	7	0	0	90s	15	15	自动	/	/
7	清洗2	4	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
8	清洗3	5	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
9	干燥	5	500	0	8	60s	0	0	0	0	自动	/	/
10	洗脱	6	100	300s	8	0	0	60s	0	50	自动	6	55
11	弃磁	5	500	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

- 约 20 分钟，提取暂停。
- 取出 96 孔板，在第 3/9 排孔中，加入 500 $\mu$ l Buffer ALB。
- 继续执行程序，约 20 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。