

MagPure Total RNA R32 Kit

简介

MagPure Total RNA R32 Kit 采用预装试剂，是专门为磁 32 核酸提取仪设计的产品，适合于从 $\leq 1 \times 10^7$ 个培养细胞、 $\leq 50\text{mg}$ 动物软组织(肝脏、脾脏、肾脏，脑等)、 $\leq 100\text{mg}$ 肌肉皮肤等肌纤维组织样品、 $\leq 200\text{mg}$ 植物/真菌组织样品中提取总 RNA。试剂盒基于磁珠法纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，整个提取过程只需 60 分钟。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern Blot、Poly A 纯化，核酸保护和体外翻译等实验。

组成

产品编号	AR422-08	AR422-48
纯化次数	8 次	48 次
RTL Lysis Buffer	15 ml	60 ml
Buffer MCB*	3 ml	18 ml
DNase I	200 ul	2 x 600 ul
DNase Buffer	30 ml	2 x 30 ml
RNase Free Water	1.8ml	10 ml
预装试剂条	8	48
R32-Tip	8	48
2ml Centrifuge Tube C	8	48
试剂条分液	第A/1个孔	1.0ml Buffer MCB(已加异丙醇)
	第B/2个孔	空
	第C/3个孔	1000 μl Buffer MW1 (已加乙醇)
	第D/4个孔	1000 μl Buffer MW1 (已加乙醇)
	第E/5个孔	1000 μl Buffer MW2 (已加乙醇) 50ul MagPure RNA Particles
	第F/6个孔	1000 μl Buffer MW2 (已加乙醇)

保存条件

本产品除 DNase I 外，其它组份可在室温保存 12 个月。收到产品后，把 DNase I 保存于 -20°C 。

准备工作

- (可选)提升裂解液的变性能力：使用前分装适量的 RTL Lysis Buffer，按每 ml RTL Lysis Buffer 加入 20 μl β -巯基乙醇或 1M 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。
- Buffer MCB 使用前，加入适量的异丙醇进行稀释。

AR422-08: 加入 7ml 异丙醇。

AR422-48: 加入 42ml 异丙醇。

第一部分：样品前处理

A. 培养细胞的收集和裂解

- 按 $\leq 1 \times 10^7$ 培养细胞，加入 1000 μl RTL Lysis Buffer。

悬浮细胞：弹打或涡旋松散细胞沉淀，根据细胞量加入适量的 RTL Lysis Buffer，涡旋打散细胞。

贴壁细胞：彻底吸弃培养液，向培养瓶或培养皿中加入适量的 RTL Lysis Buffer。用移液枪吹打使细胞从壁上脱落。

- 用一次性注射器或移液枪抽打裂解液 5~10 次打断 DNA，备用。

B. 动物组织样品的裂解

- 称取 10~50mg 动物组织，加入 1200 μl RTL Lysis Buffer，选择合适的匀浆工具进行充分匀浆，室温放置 10min。
- 室温，14,000 x g 离心 5 分钟，得 1ml 上清液备用。

C. 植物样品的裂解

- 用液氮充分研磨样品，称取 100~200mg 粉末至 2.0ml 离心管上。
- 立即加入 1200 μl RTL Lysis Buffer，涡旋 15-30 秒充分打散样

品，室温放置 10 分钟。

3. 室温，14,000 x g 离心 5 分钟，得 1ml 上清液备用。

D. 细菌样品的裂解

1. 取 1-5ml 处于指数生长期的细菌培养液，于 5000 x g 离心 10 分钟收集细胞，去除培养液。
2. 加入 100µl Buffer TE/Lysozyme (5mg/ml)，重悬细菌，室温放置 15 分钟。
3. 加入 1000 µl RTL lysis Buffer，涡旋 15-20 秒混匀。
4. (可选) 加入 ~500mg Glass Beads (0.1-0.2mm) 至样品中，高速涡旋 10 分钟。
5. 室温，14,000 x g 离心 5 分钟，得 1ml 上清液备用。

第二部分: 自动化提取流程

1. 取出预装试剂条，去除封口膜，放到合适的试剂架中，把磁力套装在第 7 个孔中，待用。
2. 取 2ml 离心管(洗脱管)中，根据样品体积，加入 80~150µl RNase Free Water，并确保在离心管底部。
3. 把第一部分获得的上清液(1000µl)转移至 A 孔(样品孔)中。
4. 添加 20µl DNase I 和 600µl DNase Buffer 至 B 孔中。
5. 运行 RNA 程序，选用“AR422”程序。
6. 打开仪器门，把装好样品和磁力外套的试剂条放入仪器中，把装有 RNase-Free Water 的离心管插入洗脱孔中，并把盖子反扣于盖孔中。
7. 约 20 分钟，程序暂停，打开仪器门。在第二个孔中，加入 0.6ml Buffer MCB。
8. 继续运行程序。约 25 分钟，程序运作结束。
9. 取出产品，保存至-20°C 保存，丢弃其它耗材。

名称	孔位	体积	旋转混匀	暂停	旋转混匀	吸磁次数	浸泡时间	干燥时间	混合速度	温度
裂解	A	0	-	-	0	0	-	0	快速 (1000)	关闭
取磁	E	0	-	-	1	1	-	0	快速 (1000)	关闭
结合	A	2000	-	跳过	8	2	-	0	快速 (1000)	关闭
洗涤 1	C	1000	-	-	2	1	0	2	快速 (1000)	关闭
洗涤 2	B	1200	10	开启	6	1	-	0	快速 (1000)	关闭
洗涤 3	D	1000	-	-	1	1	-	0	快速 (1000)	关闭
洗涤 4	E	1000	-	-	1	1	-	0	快速 (1000)	关闭
洗涤 5	F	1000	-	-	1	1	-	6	快速 (1000)	关闭
洗脱	G	100	-	-	4	2	-	0	慢速 (600)	关闭