

MagPure Universal RNA R8 Kit

简介

本产品采用预装试剂，是专门为 MagRotex 8 核酸提取仪设计的产品，适合于从各种生物样品中提取 RNA。试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术和 MagZol Reagent 提取技术，可最大程度提高纯度和得率。得到的 RNA 可直接用于定量 RT-PCR 等实验。

组成

产品编号	AR404-08	AR404-48
纯化次数	8 次	48 次
MagZol Reagent	10 ml	60 ml
RNase Free Water	1.8 ml	10 ml
R32-Tip	8	48
2ml Centrifuge Tube C	8	48
预装试剂条	8	48
试剂条分液	第A/1个孔	0.6ml Buffer MCB(已加异丙醇)
	第B/2个孔	空
	第C/3个孔	空
	第D/4个孔	600µl Buffer MW1 (已加乙醇)
	第E/5个孔	600µl Buffer MW2 (已加乙醇) 30ul MagPure RNA Particles
	第F/6个孔	600µl Buffer MW2 (已加乙醇)

保存条件

本产品除 Magzol Reagent 外，其它组份可在室温保存 12 个月。Magzol Reagent 室温运输，收到产品后，把 MagZol Reagent 保存于 2-8℃。

准备工作

- 氯仿
- RNase-Free 的 1.5ml 离心管和枪头
- 匀浆工具
- 低温高速离心机(12,000 x g)

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	1000	-	跳过	7	2	-	0	快速 (1000)	关闭
洗涤 1	C	0	-	-	0	-	0	0	快速 (1000)	关闭
洗涤 2	B	0	-	-	0	-	-	0	快速 (1000)	关闭
洗涤 3	D	600	-	-	2	1	-	0	快速 (1000)	关闭
洗涤 4	E	600	-	-	1	1	-	0	快速 (1000)	关闭
洗涤 5	F	600	-	-	1	1	-	5	快速 (1000)	关闭
洗脱	G	100	-	-	5	2	-	0	慢速 (600)	关闭

第一部分：样品前处理

1. 按下列方法对样品进行匀浆。
 - **动物组织:** 称取不超过 50mg 动物组织到 2.0ml 离心管中, 加入 1.0ml MagZol™ Reagent 或 Trizol Reagent, 立即用研磨杵或匀浆器进行充分匀浆。动物组织样品也可以用液氮研磨(参照植物处理方法)。
 - **植物组织:** 用液氮将植物样品磨成粉末, 称取 50-100mg 样品至 2.0ml 离心管中, 立即加入 1.0ml MagZol™ Reagent 或 Trizol Reagent, 涡旋充分打散样品。
 - **贴壁细胞:** 彻底去除培养液, 对 10cm² 培养面积, 加入 1.0ml MagZol™ Reagent 或 Trizol Reagent, 移液枪吸打 3-5 次, 让细胞充分裂解。
 - **悬浮细胞:** 500 x g 离心收集细胞(<5 x 10⁶ 细胞), 去除培养液。涡旋或用手指弹打松散细胞团。加入 1.0ml MagZol™ Reagent 或 Trizol Reagent, 移液枪吸打 3-5 次让细胞充分裂解。
 - **细菌:** 离心收集(1 x 10⁸ 细菌), 加入 100μl TE/lysozyme 处理 10 分钟, 然后加入 1.0ml MagZol™ Reagent 或 Trizol Reagent, 涡旋 1 分钟。
 - **微量真菌:** 转移 50~100mg 真菌样品至 2ml 真菌/细菌匀浆管中, 加入 1.0ml MagZol™ Reagent 或 Trizol Reagent, 高速涡旋 5-10 分钟裂解真菌。
2. 室温放置 3~10 分钟。
3. 加入 200μl 氯仿至裂解液中, 用手剧烈振荡 15 秒, 室温放置 3 分钟。
4. 4°C, 12,000 x g 离心 15 分钟。

振荡必须快速的, 缓慢颠倒会造成抽提不充分, 氯仿须按比例加入, 过多的氯仿会迫使 DNA 和蛋白质回到水相中, 导致 RNA 的纯度下降。由于氯仿挥发性强, 毒性较大, 可用 110μl BCP(1-Bromo-2-chloropropane)代替。离心后会形成三相体系。上层为水相层含有 RNA, 而 DNA 和蛋白质位于有机层(下层)和中间层。中间层的多少取决于样本类型, 有些样品的中间层较少。

5. 转移~0.5ml 上清液到试剂条的第一个孔中。

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。
2. 把磁力套装在第 7 个孔中, 待用。
3. 取 2ml 离心管(洗脱管)中, 根据样品体积, 加入 50~100μl RNase Free Water, 并确保 RNase Free Water 全部在离心管底部。
4. 把第一部分获得的~500μl 上清液转移至第一样品孔中。
5. 运行程序 RNA 程序, 选用“AR404”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。
7. 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。
8. 约 30 分钟, 程序运作结束, 打开仪器门。
9. 取出产品, 保存至-20°C 保存, 丢弃其它耗材。