

## 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。试剂盒结合了两种高效的 RNA 抽提技术，将一步法的 RNA 抽提技术和磁珠法 RNA 纯化技术结合起来，可最大程度上提高 RNA 的纯度。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	AR421-08	AR421-48
纯化次数	8 次	48 次
MagZol Reagent	15 ml	80 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	5 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	1.0ml Buffer MCB(已加异丙醇)
	第B/2个孔	空
	第C/3个孔	1000ul Buffer MW1 (已加乙醇)
	第D/4个孔	1000ul Buffer MW1 (已加乙醇)
	第E/5个孔	1000ul Buffer MW2 (已加乙醇) 50ul MagPure RNA Particles
	第F/6个孔	1000ul Buffer MW2 (已加乙醇)

### 保存条件

本产品除 MagZol Reagent 和 DNase I 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 DNase I 保存于 -20°C，把 MagZol Reagent 保存于 2-8°C。

### 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)
- Buffer MCB 使用前，加入适量的异丙醇进行稀释。

AR421-08: 加入 7ml 异丙醇。

AR421-48: 加入 42ml 异丙醇。

## 第一部分：样品前处理

- 按下列方法对样品进行匀浆。
  - 动物组织：**称取 30-60mg 动物组织到 2.0ml 离心管中，加入 1.2ml MagZol™ Reagent，立即用研磨杵或匀浆器进行充分匀浆。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 50-200mg 样品至 2.0ml 离心管中，立即加入 1.2ml MagZol™ Reagent，涡旋充分打散样品。
  - 贴壁细胞：**彻底去除培养液，对 10cm<sup>2</sup> 培养面积，加入 1.2ml MagZol™ Reagent，移液枪吸打 3-5 次，让细胞充分裂解。
  - 悬浮细胞：**500 × g 离心收集细胞(<1 × 10<sup>7</sup> 细胞)，去除培养液。涡旋或用手指弹打松散细胞团。加入 1.2ml MagZol™ Reagent，移液枪吸打 3-5 次让细胞充分裂解。
  - 细菌：**离心收集(1 × 10<sup>8</sup> 细菌)，加入 100μl TE/lysozyme 处理 10 分钟，然后加入 1.2ml MagZol™ Reagent，涡旋 1 分钟。
  - 微量真菌：**转移 50~200mg 真菌样品至 2ml 真菌/细菌匀浆管中，加入 1.2ml MagZol™ Reagent，高速涡旋 5-10 分钟裂解真菌。
- 室温放置 3~10 分钟，按简易方案或高纯方案。
- 3A: 简易方案(无氯仿抽提)：**4°C，12,000 × g 离心 10 分钟，转移 1ml 上清液到试剂条的第一个孔中。
- 3B: 高纯方案(氯仿抽提)：**加入 240μl 氯仿至裂解液中，用手剧烈振荡 15 秒，室温放置 3 分钟。4°C，12,000 × g 离心 15 分钟，转移~0.6ml 上清液到试剂条的第一个孔中。

## 第二部分：自动化提取流程

- 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。
- 取 2ml 离心管(洗脱管)中，根据样品体积，加入 60~100μl RNase Free Water，并确保 RNase Free Water 全部在离心管底部。
- 把第一部分获得的上清液转移至第一样品孔中。
  - 简易方案：**转移 1ml 上清液；
  - 氯仿抽提方案：**转移 0.6-0.7ml 上清液。
- 添加 20μl DNase I 和 600μl DNase Buffer 至第二孔中。
- 运行 RNA 程序，选用“通用 RNA”程序。
- 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。
- 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。继续运行程序。
- 约 25 分钟，程序运作结束。
- 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	5	1	0	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	-	5	快速(1000)	关闭
洗脱	G	100	-	-	4	2	-	0	慢速(600)	关闭