

MolPure<sup>®</sup> Magnetic Tissue Total RNA Kit

## 磁珠法组织总 RNA 提取试剂盒（瓶装）

## 产品简介

本产品适用于从动物组织（肝脏、肾脏、脾脏等）中提取总 RNA。采用独特的磁珠及精心优化的缓冲体系有效捕获释放的核酸，提取的核酸纯度高，质量稳定可靠，提取的核酸适用于 RT-PCR、Northern Blot、体外翻译等实验。本产品配合自动化核酸提取仪器使用，可实现核酸的高通量提取。

## 产品信息

货号	18605ES20/18605ES50/18605ES60
规格	20T/50T/100T

## 组分信息

类别	组分编号	组分名称	规格		
			18605ES20	18605ES50	18605ES60
Part I	18605-A	裂解液	10 mL	25 mL	45 mL
	18605-B	洗涤液 A	30 mL	70 mL	140 mL
	18605-C	洗涤液 B	10 mL	24 mL	48 mL
	18605-D	洗脱液	1 mL x 2	5 mL	10 mL
	18605-E	磁珠悬浮液	0.4 mL	1 mL	1 mL x 2
Part II	18605-F	DNase I	60 $\mu$ L	150 $\mu$ L	300 $\mu$ L
	18605-G	DNase I Reaction Buffer (10 $\times$ )	0.2 mL	0.5 mL	1 mL
	18605-H	PT 液	90 $\mu$ L	225 $\mu$ L	450 $\mu$ L

## 储存条件

- Part I 组分室温运输，室温保存，有效期 1 年。
- Part II 组分冰袋运输，-20 $^{\circ}$ C 保存 1 年。
- 收到货后，请检查 Part I、Part II 共 2 个组分是否齐全，并立即放入对应的保存温度中储存。

## 使用说明

- 洗涤液 B 在使用前请按照标签说明加入对应无水乙醇。
- 操作前请在裂解液中加入 PT 液至终浓度为 1%，如 1 mL 中加入 10  $\mu$ L PT 液，配制好的裂解液可在 4 $^{\circ}$ C 保存一周。

## 样本前处理

- ❖ 组织样本：在离心管中加入 450  $\mu$ L 裂解液（确认已加入 PT 液），称取 10-15 mg 液氮研磨后的组织样本，涡旋混匀后室温静置 5 min，得到样本裂解液。

- ❖ 悬浮细胞样本：取不超过 500 万细胞样本，低速离心去除上清。在离心管中加入 450  $\mu\text{L}$  裂解液吹打混匀，室温静置 5 min，得到样本裂解液。
- ❖ 贴壁细胞样本：使用胰酶将贴壁细胞进行消化并低速离心去除上清，在离心管中加入 450  $\mu\text{L}$  裂解液吹打混匀，室温静置 5 min，得到样本裂解液。若细胞量小于  $1 \times 10^6$ ，可直接去除孔板内培养基，向其中加入 450  $\mu\text{L}$  裂解液吹打混匀，室温静置 5 min，得到样本裂解液。

### 手动提取步骤

1. 在样本裂解液中加入 350  $\mu\text{L}$  异丙醇，涡旋 5s 混匀。
  2. 加入 20  $\mu\text{L}$  磁珠悬浮液，涡旋 5s 混匀，置于室温旋转仪或涡旋仪混匀 5 min。
  3. 孵育结束后短暂离心，将离心管放置于磁力架上，直至磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
  4. 向离心管中加入 700  $\mu\text{L}$  洗涤液 A，充分涡旋混匀 2 min，然后将离心管放置于磁力架上，直至磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
  5. 向离心管中加入 700  $\mu\text{L}$  洗涤液 B（请确认洗涤液 B 是否已添加无水乙醇），充分涡旋混匀 2 min，然后将离心管放置于磁力架上，直至磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
  6. 短暂离心弃去残留液体，室温晾干约 3-5 min 确保磁珠无乙醇残留，注意磁珠过度干燥将会导致核酸产量降低。
  7. DNA 酶消化液配制：
    - ❖ 常规样本，如肝脏，肾脏，脾脏和心脏等样本：10  $\mu\text{L}$  10x buffer+3  $\mu\text{L}$  DNase I +87  $\mu\text{L}$  DEPC 水，轻柔吹打混匀，配制完成后的消化液可短暂存放于 4 $^{\circ}\text{C}$ 。
    - ❖ 微量样本，如微量脑组织：10  $\mu\text{L}$  10x buffer + 0.3  $\mu\text{L}$  DNase I +89.7  $\mu\text{L}$  DEPC 水，轻柔吹打混匀，配制完成后的消化液可短暂存放于 4 $^{\circ}\text{C}$ 。
  8. 向离心管中加入 100  $\mu\text{L}$  DNA 酶消化液，短暂涡旋振荡使磁珠分散，室温放置 15 min，期间每隔 5 min 涡旋混匀 1 次。
  9. 向离心管中加入 700  $\mu\text{L}$  洗涤液 B，充分涡旋混匀 2 min，然后将离心管放置于磁力架上，直至磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
  10. 向离心管中加入 700  $\mu\text{L}$  洗涤液 B，充分涡旋混匀 30s，然后将离心管放置于磁力架上，直至磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
  11. 瞬间吸干残留液体，室温晾干 5 min。加入 50-100  $\mu\text{L}$  洗脱液，震荡混匀 5 min。将离心管放置于磁力架上，直至磁珠完全吸附后，将洗脱液溶液转移至无 RNA 酶的离心管中，注意不要吸到磁珠。核酸溶液保存于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 。
- 注：如样本为微量样本，如提取总量小于 5 万的细胞样本，可选择在洗脱步骤进行 65 $^{\circ}\text{C}$  加热洗脱来增大核酸得率。

### 搭配 AP-96N 核酸提取仪自动化提取步骤

1. 按如下方式添加试剂，添加试剂前请确认洗涤液 B 是否已添加无水乙醇：

板位	试剂
板位 1	结合板，每孔添加 450~500 $\mu\text{L}$ 前处理样本，350 $\mu\text{L}$ 异丙醇，
板位 2	洗涤 A 板，每孔添加 700 $\mu\text{L}$ 洗涤液 A
板位 3	磁珠板，每孔添加 700 $\mu\text{L}$ 洗涤液 B，20 $\mu\text{L}$ 磁珠悬浮液
板位 4	DNA 酶消化板，DNA 酶消化液 100 $\mu\text{L}$
板位 5	洗涤 B 板，每孔添加 700 $\mu\text{L}$ 洗涤液 B
板位 6	洗脱板，每孔添加 50-100 $\mu\text{L}$ 洗脱液

2. 将 96 磁棒套正确放入核酸提取仪器的磁棒架中，并将添加好试剂的各 96 孔板正确安放至核酸提取仪器中。

3. 提取常规样本请按照下表进行程序设置并启动运行，中间机器蜂鸣后将板位 4 深孔板拿出，向其中加入 700  $\mu\text{L}$  洗涤液 B 并将其放回原位，启动程序继续运行。程序结束后，洗脱板各孔中的溶液即为核酸溶液。如需保存，可将洗脱板各孔中的洗脱液分别转移至干净的 RNase-free 离心管中，溶液可置于  $-80^{\circ}\text{C}$  保存。注：若样本为微量样本，如提取总量小于 5 万的细胞样本，可将步骤 8 中温度设置为  $65^{\circ}\text{C}$  来增大核酸得率。

#### AP-96N 自动核酸提取仪的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步	第 8 步	第 9 步
工位	3	1	2	3	4	4	5	6	3
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:05:00	00:00:00	00:00:00	00:03:00	00:00:00
混合模式	2	1	2	2	3	2	2	2	2
混合时间	00:00:20	00:05:00	00:02:00	00:02:00	00:15:00	00:02:00	00:00:30	00:05:00	00:00:10
是否暂停	否	否	否	否	是	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:30	00:01:30	00:01:30	00:01:30	00:00:00	00:01:30	00:01:30	00:01:30	00:00:00
体积	700	850	700	700	100	800	700	100	800
温度	--	25	--	--	--	--	--	--	--

混合模式 1：混合速度 200000，混合时间 10s；

混合模式 2：混合速度 300000，混合时间 10s；

混合模式 3：混合速度 50，混合时间 10s。

4. 较难提取样本，如皮肤样本请按照下表进行程序设置并启动运行，中间机器蜂鸣后将板位 4（酶消化板）深孔板拿出，向其中加入 700  $\mu\text{L}$  洗涤液 A 并将其放回原位，启动程序继续运行。程序结束后，洗脱板各孔中的溶液即为核酸溶液。如需保存，可将洗脱板各孔中的洗脱液分别转移至干净的 RNase-free 离心管中，溶液可置于  $-80^{\circ}\text{C}$  保存。

#### AP-96N 自动核酸提取仪提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步	第 8 步	第 9 步	第 10 步
工位	3	1	2	3	4	4	3	5	6	3
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:05:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:03:00	00:00:00
混合模式	2	1	2	2	3	2	2	2	2	2
混合时间	00:00:20	00:05:00	00:02:00	00:02:00	00:15:00	00:02:00	00:02:00	00:02:00	00:05:00	00:00:10
是否暂停	否	否	否	否	是	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:30	00:01:30	00:01:30	00:01:30	00:00:00	00:01:30	00:01:30	00:01:30	00:01:30	00:00:00
体积	700	850	700	700	100	800	700	700	100	800
温度	--	25	--	--	--	--	--	--	--	--

混合模式 1：混合速度 200000，混合时间 10s；

混合模式 2：混合速度 300000，混合时间 10s；

混合模式 3：混合速度 50，混合时间 10s。

#### 注意事项

1. 各组分如有析出或浑浊（尤其冬季等室温为低温环境时），可  $45^{\circ}\text{C}$  加热至溶液澄清。
2. 洗脱时可能存在磁珠残留，吸取洗脱液时应尽量避免吸入磁珠。
3. 冻存样品避免反复冻融，否则会导致样品中核酸的质量下降。

4. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
5. 本产品仅作科研用途。