# *MagicPure*® 32 Tissue & Cell Pro Total RNA Kit
# 磁珠法组织&细胞RNA提取试剂盒(增强版，32通道)

**使用前请仔细阅读说明书**

**目录号：** EC524-32

**版本号：** Version 1.1

**保存：** 试剂盒在15℃-30℃温度下保存18个月，DNase I 在-18℃及其以下温度下保存18个月。

## 产品说明

本试剂盒适用于动物组织、细胞的总RNA提取。通过独特试剂体系迅速裂解样品，灭活内源性RNase，并为RNA与磁珠的结合提供特异、高效的环境。与传统总RNA提取方法相比，本产品无需酚、氯仿、β-巯基乙醇等有毒有机试剂，且样品裂解环节无需离心和分层等繁琐操作。提取的RNA产量高、纯度好，可直接用于RT-PCR、qRT-PCR、Northern Blot、体外翻译、RACE、NGS等下游实验。本试剂盒适用于32通道磁棒式自动化核酸提取仪。

## 特点

- 安全低毒：无苯酚、氯仿、β-巯基乙醇等有毒有机试剂。
- 操作简便：样品处理简单，自动化程度高。
- 产物纯度高：高效去除gDNA和蛋白质等杂质。

## 试剂盒组成

| Component | EC524-32-11 (32 rxns) | EC524-32-12 (64 rxns) |
|---|---|---|
| Tissue & Cell RNA Reagents Plate | 2 plates | 4 plates |
| 8-Tip Comb | 4 each | 8 each |
| Lysis Buffer 60 (LB60) | 20 ml | 40 ml |
| DNase I (3 units/μl) | 2100 U | 4200 U |
| DNase I Reaction Buffer II | 10 ml | 20 ml |

## Tissue & Cell RNA Reagents Plate组成

| 列数 | Reagents Name | Volume |
|---|---|---|
| 列1/7 | Binding Buffer 60 for Plate (BB60 for Plate) | 500 μl/孔×16 |
| 列2/8 | Clean Buffer 60 for Plate (CB60 for Plate) | 1000 μl/孔×16 |
| 列3/9 | Wash Buffer 60 for Plate (WB60 for Plate) | 800 μl/孔×16 |
| 列4/10 | Empty | |
| 列5/11 | Magnetic Total RNA Beads III for Plate | 800 μl/孔×16 |
| 列6/12 | RNase-free Water for Plate | 100 μl/孔×16 |

## 自备材料

1.5 ml RNase-free离心管、RNase-free枪头等。

## 操作前准备

- 使用自动化核酸提取仪之前，请开启紫外消毒至少20分钟，避免RNase污染。
- 从试剂盒中取出预封装96孔深孔板，去掉深孔板的外包装，将深孔板颠倒混匀数次使磁珠重悬，轻甩深孔板，将试剂及磁珠集中到深孔板底部（也可使用深孔板离心机，500 rpm离心不超过1分钟）。

## RNA提取操作

1、样品处理

**贴壁细胞**

a. 常规6孔板单孔或3.5 cm直径平皿(约10 $cm^2$培养面积)培养的细胞，弃去培养液，加入600 µl的 LB60，水平放置片刻，使裂解液充分接触并裂解细胞，然后使用移液器吹打使细胞脱落 (对于贴壁牢固的细胞可用细胞刮刀剥离)。

b. 将细胞裂解液转移至RNase-free离心管（自备）中，室温涡旋振荡8分钟。

**悬浮细胞**

a. 2-8℃，2,000 ×g离心2分钟，弃上清，收集细胞。

b. 每≤5×$10^6$个细胞加入600 µl LB60，室温涡旋振荡8分钟。

**动物组织**

a. 将新鲜或超低温冷冻的样品迅速转移至含液氮的研钵中，用研杵充分研磨，直至成粉末状。

* 研磨过程中可补加液氮，如果研磨不彻底会影响RNA的提取量和质量。
* 可使用自动研磨仪等设备充分研磨样品。

b. 将10-100 mg研磨样品转移至RNase-free离心管（自备）中，加入600 µl LB60，室温涡旋振荡8分钟。

2、小心撕去预封板铝箔封口膜，避免液体溅出。吸取550 µl上述样品裂解混合物转移至预封板1/7列各孔位中。

* 当10 mg≤组织样品＜50 mg时，无需离心，直接吸取转移550 µl上述裂解混合物即可；
  当50 mg≤组织样品＜100 mg时，建议13,400×g离心2分钟，再吸取转移550 µl上清液。
* 细胞样品（≤5×$10^6$个）无需离心，直接吸取转移550 µl上述裂解混合物即可。

3、在预封板4/10列各孔位中加入300 µl DNase I工作液。

* DNase I工作液配制（单孔）：280 µl DNase I Reaction Buffer II 和 20 µl 的 DNase I混匀。

4、将磁棒套插入32通道自动化核酸提取仪磁棒套卡槽内。

5、运行相应的自动化提取程序。

* 请严格按下表设置提取程序（洗脱温度65℃）。

| 步骤 | 工位 | 名称 | 等待时间 | 混合时间 | 磁吸时间 | 磁吸次数 | 混合速度 | 体积 | 温度（℃） |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 5/11 | 转移磁珠 | 0 min | 5 sec | 10 sec | 3 | 快 | 800 µl | OFF |
| 2 | 1/7 | 结合 | 0 min | 10 min | 15 sec | 3 | 快 | 1000 µl | OFF |
| 3 | 2/8 | 漂洗1 | 0 min | 4 min | 15 sec | 3 | 快 | 1000 µl | OFF |
| 4 | 3/9 | 漂洗2 | 0 min | 4 min | 15 sec | 3 | 快 | 800 µl | OFF |
| 5 | 4/10 | 去除DNA | 0 min | 6.5 min | 15 sec | 3 | 快 | 300 µl | OFF |
| 6 | 5/11 | 漂洗3 | 0 min | 3 min | 15 sec | 3 | 快 | 800 µl | OFF |
| 7 | 5/11 | 干燥 | 5 min | 0 sec | 0 sec | —— | —— | —— | OFF |
| 8 | 6/12 | 洗脱 | 0 min | 8 min | 15 sec | 3 | 中 | 100 µl | 65 |
| 9 | 2/8 | 弃磁珠 | 0 min | 10 sec | —— | —— | —— | —— | OFF |

6、程序结束后，将6/12列各孔中的RNA吸出，置于-85～-65°C保存。

**注意事项**

- 应选取新鲜或未经反复冻融的样品进行RNA提取。
- 加入裂解液后，务必充分振荡，确保裂解效果。
- 若裂解液有沉淀析出，可在37°C水浴中溶解，摇匀后使用。
- 实验需使用RNase-free耗材（如离心管、枪头等）。

**本产品仅供研究，不用于临床诊断。**

版本号：V1.1-202604

服务电话 +86-10-57815020
服务邮箱 complaints@transgen.com