

MolPure[®] 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	50 mL
	18605-B	结合液	12 mL	30 mL	60 mL
	18605-C	洗涤液 A	14 mL	35 mL	70 mL
	18605-D	洗涤液 B	10 mL	24 mL	48 mL
	18605-E	洗脱液	1 mL x 2	5 mL	10 mL
	18605-F	磁珠悬浮液	0.4 mL	1 mL	1 mL x 2
Part II	18605-G	DNase I	60 μ L	150 μ L	300 μ L
	18605-H	DNase I Reaction Buffer (10 \times)	0.2 mL	0.5 mL	1 mL
	18605-I	PT 液	90 μ L	225 μ L	450 μ L

储存条件

Part I 组分室温保存，有效期 1 年。

Part II 组分-25~-15 $^{\circ}$ C 保存，有效期 1 年。

使用说明

1. 洗涤液 B 在使用前请按照标签说明加入对应无水乙醇。
2. 操作前请在裂解液中加入 PT 液至终浓度为 1%，如 1 mL 裂解液中加入 10 μ L PT 液，配制完成后可在 4 $^{\circ}$ C 保存一周。
3. PT 液在-20 $^{\circ}$ C 中为冷冻状态，室温溶解后会有微量结晶，可涡旋混匀，待试剂完全溶解后使用。

样本前处理

- ❖ 组织样本：在离心管中加入 450 μ L 裂解液（确认已加入 PT 液），使用液氮将样本研磨成粉末状，称取 10-15mg 样本加入裂解液中，涡旋混匀，如有沉淀可使用移液枪进行吹打，室温静止 5 min，得到前处理样本。

- ❖ 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 μL 裂解液吹打混匀，室温静置 5 min，得到前处理样本。
- ❖ 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 μL 裂解液吹打混匀，室温静置 5 min，得到前处理样本。若细胞量小于 1×10^6 ，可直接去除孔板内培养基，向其中加入 450 μL 裂解液吹打混匀，室温静置 5 min，得到前处理样本。

一、手动提取步骤

1. 在前处理样本中加入 550 μL 结合液，涡旋 5s 混匀。
2. 加入 20 μL 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 μL 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 μL 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，置于磁力架中开盖室温晾干 5 min，确保磁珠无水乙醇残留。
7. DNA 酶消化液配制（需提前配制，避免第 6 步磁珠过分晾干）：
 - ❖ 常规样本，如肝脏，肾脏，脾脏和心脏等样本：10 μL 10x buffer+3 μL DNase I +87 μL DEPC 水，轻柔吹打混匀，配制完成后的消化液可短暂存放于 4 $^{\circ}\text{C}$ （不超过 30 min）。
 - ❖ 微量样本，如微量脑组织：10 μL 10x buffer + 0.3 μL DNase I +89.7 μL DEPC 水，轻柔吹打混匀，配制完成后的消化液可短暂存放于 4 $^{\circ}\text{C}$ （不超过 30 min）。
8. 向离心管中加入 100 μL DNA 酶消化液，轻柔颠倒或吹打使磁珠分散，室温放置 15 min，每隔 5 min 颠倒混匀 1 次。
9. 向离心管中加入 700 μL 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. 重复步骤 9。
11. 瞬离吸干净残留液体，置于磁力架中开盖室温放置 5min 使乙醇充分挥发，观察到磁珠表面无液体或刚出现龟裂即可。（注：磁珠不能过度干燥，过度干燥会导致洗脱效率下降。若室温过低可适当延长晾干时间。）
12. 向离心管中加入 50-100 μL 洗脱液，置于恒温震荡仪中，60 $^{\circ}\text{C}$ 1600 rpm 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 $^{\circ}\text{C}$ 。

二、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，DNA 酶消化液为现用现配，请参照**手提步骤 7**进行配制：

板位	试剂
板位 1	结合板，550 μL 结合液
板位 2	洗涤 A 板，每孔添加 700 μL 洗涤液 A
板位 3	磁珠板，每孔添加 700 μL 洗涤液 B，20 μL 磁珠悬浮液
板位 4	DNA 酶消化板，DNA 酶消化液 100 μL
板位 5	洗涤 B 板，每孔添加 700 μL 洗涤液 B
板位 6	洗脱板，每孔添加 50-100 μL 洗脱液

2. 按照**样本前处理**步骤进行操作得到前处理样本，将其加入板位 1，吹打 2-3 次混匀。

- 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。
- 按照下表进行程序设置并启动运行。程序结束后，洗脱板中的溶液即为核酸溶液。如需保存，可将其转移至干净的 RNase-free 离心管中，置于-80°C保存。

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	5	6	6	3
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:05:00	00:00:00	00:03:00	00:00:00	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	00:05:00	00:00:00	00:00:10
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:00:45	00:01:30	00:00:45	00:00:45	00:01:30	00:00:45	00:00:45	00:00:45	00:00:00
体积	700	1000	700	700	100	700	100	100	700
温度	--	25	--	--	--	--	65	65	--

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。

三、搭配 AP-48N 核酸提取仪自动化提取步骤

- 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，DNA 酶消化液为现用现配，请参照**手提步骤 7**进行配制：

孔位	试剂
孔位 1/7 列	每孔添加 550 μ L 结合液
孔位 2/8 列	每孔添加 700 μ L 洗涤液 A
孔位 3/9 列	每孔添加 700 μ L 洗涤液 B，20 μ L 磁珠悬浮液
孔位 4/10 列	DNA 酶消化液 100 μ L
孔位 5/11 列	每孔添加 50-100 μ L 洗脱液
板位 6/12 列	每孔添加 700 μ L 洗涤液 B

- 按照样本前处理步骤进行操作得到前处理样本，将其加入孔位 1/7 列，吹打 2-3 次混匀。
- 将 8 联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 96 孔板正确安放至核酸提取仪器中。
- 请按照下表进行程序设置并启动运行。程序结束后，洗脱孔（第 5、11 列）中的溶液即为核酸溶液。如需保存，可将其转移至干净的 RNase-free 离心管中，置于-80°C保存。

AP-48N 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
孔 位	3	1	2	3	4	6	5	5	3
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:05:00	00:00:00	00:03:00	00:00:00	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	00:05:00	00:00:00	00:00:10
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:00:45	00:01:30	00:00:45	00:00:45	00:01:30	00:00:45	00:00:45	00:00:45	00:00:00
体 积	700	1000	700	700	100	700	100	100	700
温 度	--	25	--	--	--	--	65	65	--

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。

四、搭配 AP-16S 核酸提取仪自动化提取步骤

1. 按照 48 通道加液方式在 96 深孔板中添加试剂。
2. 按照样本前处理步骤进行操作得到前处理样本, 将其加入孔位 1/7 列, 吹打 2-3 次混匀。
3. 将 8 联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 96 孔深孔板正确安放至核酸提取仪器中。
4. 按照下表进行程序设置并启动运行。程序结束后, 洗脱孔 (第 5、11 列) 中的溶液即为核酸溶液。如需保存, 可将其转移至干净的 RNase-free 离心管中, 置于 -80°C 保存。

AP-16S 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
工 位	3	1	2	3	4	6	5	5	3
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:05:00	00:00:00	00:03:00	00:00:00	00:00:00
混合模式	3	2	3	3	5	3	3	3	3
混合时间	00:00:20	00:05:00	00:02:00	00:02:00	00:15:00	00:02:00	00:05:00	00:00:00	00:00:10
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:00:45	00:01:30	00:00:45	00:00:45	00:01:30	00:00:45	00:00:45	00:00:45	00:00:00
体 积	700	1000	700	700	100	700	100	100	700
温 度	--	25	--	--	--	--	65	65	--

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°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。