

# MagicPure® 96 Tissue & Cell Pro Total RNA Kit

## 磁珠法组织&细胞RNA提取试剂盒(增强版, 96通道)

使用前请仔细阅读说明书

目录号: EC524-96

版本号: Version 1.0

保存: 试剂盒在15°C-30°C温度下保存两年, DNase I 在-18°C及其以下温度下保存两年。

### 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96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                                             | EC524-96-11 (96 rxns) |
|-------------------------------------------------------|-----------------------|
| Plate 1: Binding Buffer 60 for Plate (BB60 for Plate) | 500 μl/孔×96           |
| Plate 2: Clean Buffer 60 for Plate (CB60 for Plate)   | 1000 μl/孔×96          |
| Plate 3: Wash Buffer 60 for Plate (WB60 for Plate)    | 800 μl/孔×96           |
| Plate 4: Empty Plate                                  |                       |
| Plate 5: Magnetic Total RNA Beads III for Plate       | 800 μl/孔×96           |
| Plate 6: RNase-free Water for Plate                   | 100 μl/孔×96           |
| Lysis Buffer 60 (LB60)                                | 65 ml                 |
| DNase I (3 units/μl)                                  | 6000 U                |
| DNase I Reaction Buffer II                            | 30 ml                 |
| 96-Tip Comb                                           | 1 each                |

### 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, 请进行紫外消毒至少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Plate 5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

- 常规6孔板单孔或3.5 cm直径平皿(约10 cm<sup>2</sup>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)。
- 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 $\leq 5 \times 10^6$ 个细胞加入600  $\mu$ l 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  $\mu$ l 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  $\mu$ l上述样品裂解混合物转移至预封板Plate 1各孔位中。
  - \* 当10 mg $\leq$ 组织样品 < 50 mg时, 无需离心, 直接吸取转移550  $\mu$ l上述裂解混合物即可;
  - 当50 mg $\leq$ 组织样品 < 100 mg时, 建议13,400×g离心2分钟, 再吸取转移550  $\mu$ l上清液。
  - \* 细胞样品 ( $\leq 5 \times 10^6$ 个) 无需离心, 直接吸取转移550  $\mu$ l上述裂解混合物即可。
- 3、在Plate 4各孔位中加入300  $\mu$ l DNase I工作液。
  - \* DNase I工作液配制 (单孔): 280  $\mu$ l DNase I Reaction Buffer II 和 20  $\mu$ l 的 DNase I 混匀。
- 4、将磁棒套放入Plate 5板内。
- 5、将Plate 1-Plate 6分别依次放置于96通道自动化核酸提取仪深孔板底座1-6号工位上。
- 6、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 | 名称     | 板位 | 等待时间  | 混合时间    | 磁吸时间   | 磁吸次数 | 体积           | 混合速度 | 温度 (℃) |
|----|--------|----|-------|---------|--------|------|--------------|------|--------|
| 1  | 装磁棒套   | 5  |       |         |        |      |              |      |        |
| 2  | 转移磁珠   | 5  | 0 min | 5 sec   | 10 sec | 3    | 800 $\mu$ l  | 快    | OFF    |
| 3  | 结合     | 1  | 0 min | 10 min  | 15 sec | 3    | 1000 $\mu$ l | 快    | OFF    |
| 4  | 漂洗1    | 2  | 0 min | 4 min   | 15 sec | 3    | 1000 $\mu$ l | 快    | OFF    |
| 5  | 漂洗2    | 3  | 0 min | 4 min   | 15 sec | 3    | 800 $\mu$ l  | 快    | OFF    |
| 6  | 去除 DNA | 4  | 0 min | 6.5 min | 15 sec | 3    | 300 $\mu$ l  | 快    | OFF    |
| 7  | 漂洗3    | 5  | 0 min | 3 min   | 15 sec | 3    | 800 $\mu$ l  | 快    | OFF    |
| 8  | 干燥     | 5  | 5 min | 0 sec   | 0 sec  | ——   | ——           | ——   | OFF    |
| 9  | 洗脱     | 6  | 0 min | 8 min   | 15 sec | 3    | 100 $\mu$ l  | 快    | 65     |
| 10 | 弃磁珠    | 2  | 0 min | 10 sec  | ——     | ——   | ——           | ——   | OFF    |
| 11 | 卸磁棒套   | 2  |       |         |        |      |              |      |        |

- 7、程序结束后, 将6号工位的96孔深孔板 (Plate 6) 中的RNA吸出, 置于-85℃ ~ -65℃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℃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: V1.0-202508

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

