

## MagicPure<sup>®</sup> Total RNA Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: EC521

版本号: Version 1.0

保存: 试剂盒中 *TransZol Up* 在 2-8°C 避光保存一年, 其余组份在室温 (15°C-25°C) 干燥条件下保存一年。

### 产品说明

本试剂盒广泛适用于培养细胞、微生物和动植物组织等样品的总RNA提取。用 *TransZol Up* 充分裂解样品, 加入RNA Extraction Agent后, 溶液分为无色上层 (水相)、中间层和粉红色下层 (有机相), RNA溶解在水相中。收集水相溶液后, 经磁珠特异吸附便可回收其中的RNA。与其它总RNA提取方法相比, 具有裂解能力强、提取量高, 应用范围广等优点。本试剂盒适用于磁棒式高通量核酸提取仪。

### 特点

- 安全性高: 使用更加安全的RNA Extraction Agent替代传统氯仿。
- 应用范围广: 适用于培养的细胞、动植物组织、病毒和细菌等样品。
- 操作简便: 机外操作步骤少。
- 提取纯度高: DNA和蛋白质的污染低。

### 试剂盒组成

Component	EC521-01/11 (50 rxns)
<i>TransZol Up</i>	55 ml
RNA Extraction Agent	15 ml
Binding Buffer 44 (BB44)	10 ml
Magnetic Total RNA Beads	1.3 ml
Clean Buffer 44 (CB44)	85 ml
Wash Buffer 44 (WB44)	12 ml
RNase-free Water	6 ml
Magnetic Stand (16 hole)	1个/-

### 操作前准备

请提前将低温离心机调至2-8°C, BB44用前加入30 ml的异丙醇, WB44使用前加入48 ml的无水乙醇。

准备试剂: 异丙醇, 无水乙醇。

### 操作步骤

#### 1、匀浆处理

#### 贴壁培养细胞

- a. 倒出培养液, 用1×PBS漂洗一次。
- b. 每10 cm<sup>2</sup>生长的培养细胞中加入1 ml的 *TransZol Up*, 水平放置片刻, 使裂解液均匀分布于细胞表面并裂解细胞, 然后使用移液枪吹打细胞使其脱落 (对于贴壁牢固的培养细胞可用细胞刮勺刮离细胞)。
- c. 将细胞裂解液转移至离心管中, 加入0.2 ml RNA Extraction Agent, 用移液枪反复吹吸直至裂解液中无明显沉淀; 室温涡旋振荡5分钟。

#### 菌液、悬浮培养细胞

- a. 将菌液或悬浮培养细胞连同培养液一起倒入离心管中, 8,000 ×g 2-8°C离心2分钟, 弃上清。
- b. 加入 *TransZol Up* (每 $\leq 2 \times 10^9$ 个细菌或 $\leq 5 \times 10^6$ 个细胞中加入1 ml *TransZol Up*)。
- c. 加入0.2 ml RNA Extraction Agent, 用移液枪反复吹吸直至裂解液中无明显沉淀; 室温涡旋振荡5分钟。



#### 动物、植物样品

a. 将超低温冷冻的样品称量后，迅速转移至用液氮预冷的研钵中，用研杵充分研磨直至研磨成粉末状。

\* 其间可以补加液氮，充分研磨。如果研磨不彻底会影响RNA的提取量和质量。

b. 将研磨成粉末状的样品转移至离心管中，每50-100 mg样品加入1 ml *TransZol Up*。

c. 加入0.2 ml RNA Extraction Agent，用移液枪反复吹吸直至裂解液中无明显沉淀；室温涡旋振荡5分钟。

2、10,000×g 2-8°C离心15分钟。此时样品分成三层，无色的水相(上层)，中间层，粉红色有机相(下层)。RNA在水相中，水相体积约为所用*TransZol Up*试剂的50%-60% (为了避免吸到中间层导致DNA污染，可以适当留下一部分水相)。

3、转移无色的水相于新的离心管中，加入等体积的BB44 (使用前检查是否已加入异丙醇)和25 μl Magnetic Total RNA Beads (磁珠使用前涡旋混匀)。

4、涡旋混匀12分钟。

5、将离心管置于磁力架上，进行磁分离，吸去磁珠以外的液体，避免吸到磁珠。(磁分离操作建议：离心管置于磁力架后，轻轻地左右转动，待磁珠聚集于贴近磁力架的管壁后，轻轻地颠倒磁力架2-3次，使管盖上的磁珠也聚集到管壁，静置30秒。)

6、取下离心管，加入800 μl CB44，涡旋混匀1分钟后进行磁分离，吸去磁珠以外的液体，避免吸到磁珠。

(尽量吸干液体，如果管壁上有液体残留可瞬时离心后再进行磁分离，吸净除磁珠以外的液体，以下每一步磁分离都可进行此操作)

7、重复步骤6一次

8、取下离心管，加入500 μl WB44 (使用前检查是否已加入无水乙醇)，涡旋混匀1分钟后进行磁分离，吸去磁珠以外的液体，避免吸到磁珠。

9、重复步骤8一次。

10、将离心管置于磁力架上，室温晾干5分钟。

11、取下离心管，加入50-100 μl RNase-free Water，充分吹吸混匀后，置于56°C，孵育5分钟。

12、将离心管置于磁力架上进行磁力分离，吸取磁珠以外的液体于无菌的1.5 ml离心管中，避免吸到磁珠。RNA置于-70°C保存。

#### 注意事项

- 加入RNA Extraction Agent后，一定要充分振荡，确保抽提效果。
- 磁珠使用前一定要涡旋混匀。
- 实验所用有机试剂，要确保无RNase污染，所用耗材如离心管、枪头也要确保 RNase free。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V1-202302

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

