

MagPure Blood RNA Kit

磁珠法血液 RNA 提取试剂盒

本产品适合于从抗凝血液、淋巴细胞、白膜层、骨髓、培养细胞等样品提取 RNA。本产品基于高结合力的纳米磁性粒子的纯化方式。样品在裂解液和蛋白酶的作用下裂解消化，RNA/DNA 释放到裂解液中。加入结合液和磁性粒子吸附 RNA/DNA，而蛋白质则不被吸附而去除。吸附了 DNA/RNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和其它杂质，再经含乙醇洗涤去除盐分，然后加入 DNase 消化去除 DNA，加入结合液回收 RNA，最后 RNA 被低盐缓冲液洗脱。洗脱的 RNA 可直接用于 RT-PCR、病毒检测等实验。

产品组份 (瓶装试剂)

产品编号	R6613-01	R6613-02	R6613-03
纯化次数	48 次	96 次	480 次
DNase I	600 μ l	2 x 600 μ l	10 x 600 μ l
DNase Buffer	20 ml	30 ml	150 ml
MagPure Particles N	2.5 ml	5.0 ml	28 ml
Buffer ALB2	40 ml	60 ml	350 ml
MagZol 3BD	65 ml	140 ml	3 x 200 ml
Buffer BCP2	10 ml	15 ml	80 ml
Buffer MW2*	20 ml	50 ml	2 x 100 ml
RNase Free Water	10 ml	20 ml	60 ml

保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 MagPure Particles N, MagZol 3BD 和 Buffer BCP2 保存于 2-8℃，DNase I 保存于 -20℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产品组份：预分装试剂

货号	试剂组份与装量	R6613-TL-06	R6613-S-48
DNase I		2 x 600 µl	600 µl
DNase Buffer		30 ml	15 ml
MagZol 3BD		130 ml	60 ml
Buffer BCP2		15 ml	10 ml
Buffer ALB2		60 ml	30 ml
DA-Tip		12 个	24 个
尖底板/ 试剂条	第 1/7 排孔: 350µl 异丙醇/15µl MPN	6 块	48 条
	第 2/8 排孔: 350µl 异丙醇/15µl MPN		
	第 3/9 排孔: 700µl 洗涤液 MW2		
	第 4/10 排孔: 空		
	第 5/11 排孔: 700µl Buffer MW2		
	第 6/12 排孔: 70µl RNase Free Water		

保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 MagZol 3BD 保存于 2-8℃，DNase I 保存于 -20℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

方案 1. 单管操作

1. 在 5-15ml 离心管中，加入 1.3ml MagZol 3BD。
2. 加入 1ml 抗凝血液、白膜层、血清、血浆或其它液体样品，立即用力快速上下振荡混匀 10~15 秒充分打散样品，高速涡旋 15 秒形成匀一的匀浆液，室温放置 3 分钟。
 - 全血采集到含 EDTA 的抗凝的真空采血管中，并尽快转移至含有 MagZol 3BD 的离心管中，充分混匀对 RNA 产量很关键。
 - **低温保存血液 1:** 转移 1ml 血液至 5-15ml 离心管中，并在 -70℃ 下储存。提取 RNA 时，在不解冻情况下，在冷冻血液中加入 1.2ml MagZol 3BD 颠倒或摇动直至样品完全解冻。不要在没有试剂

的情况下解冻血液样本，这将导致 RNA 降解。

- **低温保存血液 2:** 转移 1ml 血液至 5-15ml 离心管中，然后加入 1.2ml MagZol 3BD，剧烈上下颠倒 10-15 秒，静置 5 分钟，60°C 高速振荡(1200-1500rpm)温育 10 分钟。该裂解物可以在-70°C 下储存至少 2 年，在-20°C 下至少 6 个月，在 2~8°C 下至少 15 天，室温 7 天。
 - **富含 DNA 的样品:** 处理含富 DNA 的骨髓、白膜层样品和动物血液时，建议样品量控制在 500~1000 μ l。先转移 300~500 μ l 样品至 10-15ml 离心管中，加入灭菌水或 RNase Free Water 补足至 1000 μ l，颠倒混匀 3-5 次，然后再加入 1.2ml MagZol 3BD，立刻用手剧烈振荡 15 秒，涡旋混匀 15 秒，让样品和裂解液形成不粘稠的均一的匀浆液，涡旋后若样品还是粘稠且不均一时，再用移液枪反复吹打 5-10 次。若样品过于粘稠时，按比例加入适量的 MagZol 3BD 和 RNase Free Water 稀释样品，然后再剧烈振荡混匀直至样品充分形成均一的匀浆液。
3. **60°C 水浴 10 分钟，其间颠倒混匀 1 次。**
 4. **可选: 加入 160 μ l Buffer BCP2 至混和液，快速振荡混匀 15 秒。**
用 Buffer BCP2 处理后，上清液会更加澄清。
 5. 室温下，4,500~5,000 x g 离心 15 分钟。
 6. **转移 1.0ml 上清液至 2.0ml 离心管中，加入 700 μ l 异丙醇和 30 μ l MagPure Particles N 至样品中，颠倒混匀 10-15 次，室温放置 6 分钟，其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 3 分钟，倒弃或吸弃溶液。**
 7. **加入 800 μ l Buffer MW2，涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。短暂离心再吸尽所有的残液。空气干燥 3 分钟。**
 8. **加入 250 μ l DNase 混和液(240 μ l DNase Buffer +10 μ l DNase I)至样品中，室温温和振荡 15~20 分钟消化去除 DNA。**
 9. **加入 500 μ l Buffer ALB2 至样品，颠倒混匀 10~15 次，室温放置 6 分钟，其间混匀 3~5 次。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。**
 10. **加入 800 μ l Buffer MW2，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。**
 11. 短暂离心。转移至磁力架上，吸弃所有的溶液。空气干燥 5 分钟。
 12. **加入 50~100 μ l RNase Free Water 至样品中，涡旋打散磁珠。室温静置 5 分钟。转移至磁力架上吸附 3 分钟，把 RNA 转移至新的离心管中。**

方案 2: 32/48 通道核酸提取仪操作

1. 瓶装试剂：按预分装试剂表格所示，按各种试剂分装至 96 孔板的对应孔中。预分装试剂：颠倒 96 孔板让磁珠充分悬浮，正放 1 分钟后，去除封口袋和封口膜。
2. 按单管操作步骤的第 1-5 步进行样品前处理获得上清液。
3. 在第 1/7, 2/8 排对应的孔中，每孔加入 500~550 μ l 上清液。
4. 在第 4/10 排孔中，加入 250 μ l DNase 混和液(240 μ l DNase Buffer + 10 μ l DNase I)。
5. 把磁力外套插到仪器中，把 96 孔板放到仪器中(A1 孔按左内角放置)。编写程序，并启动对应程序。

序号	步骤名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	结合2	2	900	60s	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
2	结合1	1	900	360s	7	0	0	90s	30	30	自动	/	/
3	结合2	2	900	240s	7	0	0	90s	30	30	自动	/	/
4	清洗1	3	800	120s	7	0	0	90s	10	10	自动	/	/
5	干燥1	3	250	0	0	3min/晾干		0	0	0	自动	/	/
6	酶解	4	250	600s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/
7	暂停	4	300	0	0	暂停		0	0	0	自动	/	/
8	重结合	4	800	360s	8	0	0	90s	15	15	自动	/	/
9	清洗2	5	800	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
10	干燥2	5	800	0	8	5 min/晾干		0	0	0	自动	/	/
11	洗脱	6	100	300s	9	0	0	60s	0	50	自动	/	/
12	弃磁	5	800	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

6. 约 25 分钟，提取暂停。
7. 取出 96 孔板，在第 4/10 排孔中，加入 500 μ l Buffer ALB2 重结合 RNA。
8. 继续执行程序，约 25 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
9. 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ C。