

MagPure Blood RNA Kit B

磁珠法血液 RNA 提取试剂盒 B

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	R6611-00B	R6611-01B	R6611-02B	R6611-03B
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
Proteinase K Solution	0.6 ml	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
DNase I	300 μ l	600 μ l	2 $\times$ 600 μ l	10 $\times$ 600 μ l
DNase Buffer C	15 ml	30 ml	60 ml	270 ml
MagPure Particles N	1.2 ml	1.6 ml	3.5 ml	17 ml
Buffer MLBN	20 ml	40 ml	80 ml	350 ml
Buffer GW1 *	13 ml	26 ml	44 ml	220 ml
Buffer MW2 *	10 ml	20 ml	50 ml	2 $\times$ 100 ml
RNase Free Water	10 ml	10 ml	20 ml	60 ml

保 存 条 件

本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K Solution 和 MagPure Particles N 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，版本，尖底板

货 号		试剂组份与装量	R6611B-TL-06	R6611B-S-48
Proteinase K Solution			2.5 ml	1.2 ml
DNase I			2 x 600 µl	600 µl
DA-Tip			12 个	24 个
尖底板/ 试剂条	第 1/7 排孔：600µl Buffer MLBN		6 块	48 条
	第2/8排孔：600µl 洗涤液GW1&30µl MPN			
	第3/9排孔：600µl DNase Buffer C			
	第4/10排孔：600µl Buffer GW1			
	第5/11排孔：600µl 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 Proteinase K Solution 和 MagPure Particles 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 1.5ml 离心管中，加入 20µl Proteinase K Solution 和 150~300µl 全血、白膜层、浓缩血液、淋巴细胞悬液、骨髓、细胞悬液、培养液、血浆或血清等液体样品。
 - 骨髓中红细胞带核，样品粘稠，把样品量控制在 150µl。
 - 250µl 淋巴细胞悬液应控制在 1.0-1.5ml 全血样品分离中分离得到的。全血或骨髓样品加入 3 倍 RBC lysis Buffer 裂解红细胞，离心得到白细胞悬液再进行操作。
 - 250µl 白膜层控制在 1.0~1.5ml 全血中分离得到的白膜层，过多样品量会因 DNA 太多，裂解液因太粘稠而导致提取失败。
 - 哺乳动物血液控制在 200µl，人体血液可以用到 300µl。为提高人血 RNA 产量，抗凝血液静置分层后，直接取 300µl 中间层（淋巴细胞富集区）进行提取。
2. 加入 600µl Buffer MLBN，立即涡旋混匀 10~15 秒，室温放置 3 分钟。

3. 加入 30µl MagPure Particles N, 颠倒 10-15 次, 室温放置 10 分钟, 其间颠倒混匀数次, 转移至磁力架上吸附 2 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
4. 加入 500µl Buffer GW1, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。吸弃溶液。短暂离心吸尽残液, 空气干燥 3 分钟。
5. 加入 500µl DNase 混和液 (490µl DNase Buffer C +10µl DNase I)至样品中, 室温振荡 20 分钟消化去除 DNA。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
6. 加入 500µl Buffer GW1, 涡旋 10 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液。
7. 加入 500µl 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。
8. 加入 500µl 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。
9. 短暂离心, 转移至磁力架上, 吸弃所有的溶液。空气干燥 10 分钟。
10. 加入 50µl RNase Free Water 至样品中, 涡旋打散磁珠, 室温静置 3 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. 在第 1/7 排孔中, 加入 20µl Proteinase K Solution 和 150~300µl 全血、白膜层、浓缩血液、淋巴细胞悬液、骨髓、细胞悬液等液体样品, 并立即用移液枪吸打混匀 3~5 次。
 - 骨髓中红细胞带核, 样品粘稠, 把样品量控制在 150µl。
 - 250µl 淋巴细胞悬液应控制在 0.5~1.0ml 全血样品分离中分离得到的。全血样品加入 3 倍 1 × RBC Lysis Buffer 裂解红细胞, 离心得到白细胞悬液再进行操作。
 - 250µl 白膜层控制在 1.0~1.5ml 全血中分离得到的白膜层, 过多样品量会因 DNA 太多, 裂解液因太粘稠而导致提取失败。
 - 哺乳动物血液控制在 250µl, 人体血液可以用到 300µl。为提高人血 RNA 产量, 抗凝血静置分层后, 直接取 300µl 中间层 (淋巴细胞富集区) 或中下层进行提取。
3. 在第 3/9 排孔中, 加入 10µl DNase I 至液体中, 不要粘附的孔壁上方。
4. 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。

- 5. 约 50 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
- 6. 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。

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	混和	1	900	240	9	0	0	0	0	0	自动	1	55
2	吸磁	2	600	20	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
3	结合	1	900	500	8	0	0	90s	30	30	自动	/	/
4	清洗1	2	600	90	9	0	0	60s	15	15	自动	/	/
5	干燥	3	600	0	8	180s/晾干		0	0	0	自动	/	/
6	酶解	3	600	1200	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	清洗2	4	600	90	9	0	0	60s	10	10	自动	/	/
8	清洗3	5	600	60	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
9	干燥	5	600	0	8	300s/晾干		0	0	0	自动	/	/
10	洗脱	6	100	240	8	0	0	60s	0	50s	自动	/	/
11	弃磁	5	500	20	9	0	0	0	0	0	自动	/	/