

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 C	20 ml	30 ml	150 ml
MagPure Particles N	2.5 ml	5.0 ml	28 ml
MagZol 3BD	65 ml	140 ml	3 x 200 ml
Buffer BCP2	10 ml	15 ml	80 ml
Buffer GW1	13 ml	44 ml	110 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
MagZol 3BD			130 ml	60 ml
Buffer BCP2			15 ml	10 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：500µl DNase Buffer C			
	第4/10排孔：500µl洗涤液GW1			
	第5/11排孔：500µl 洗涤液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 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。

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 15 秒充分打散样品，高速涡旋 15~20 秒形成均一且无明显团状的匀浆液，室温放置 3-5 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 1.3ml 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 1.3ml MagZol 3BD, 剧烈上下颠倒 10-15 秒, 静置 5 分钟。该裂解物可以在-70℃下储存至少 2 年, 在-20℃下至少 6 个月, 在 2~8℃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 1.3ml 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. **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。
 4. **室温下, 4,500~5,000 $\times$ g 离心 15 分钟。**
处理骨髓或其它富含 DNA 的血液样品时, 若离心后上清液是粘稠或拉丝状, 转移 0.7ml 上清液, 加入 1ml MagZol 3BD Reagent, 涡旋混匀, 加入 0.1ml Buffer BCP2 混匀, 于 10000 $\times$ g 离心 5 分钟, 按第 5 步进行操作。
 5. **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。**
 6. **加入 500 μ l DNase 混和液(490 μ l DNase Buffer C + 10 μ l DNase I)至样品中, 室温温和振荡 15~20 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。**
 7. **加入 500 μ l 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。**
 8. **加入 500 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。**
 9. **加入 500 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。**
 10. **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。**
 11. **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 1-4 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 500~600µl 上清液。
- 4. 在第 3/9 排孔中，加入 10µl 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1	1	850	300s	7	0	0	90s	30	30	自动	/	/
2	结合2	2	850	300s	7	0	0	90s	30	30	自动	/	/
3	酶解	3	500	600s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
4	清洗1	4	500	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	清洗2	5	500	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	干燥2	6	100	0	0	4min/晾干		0	0	0	0	0	0
7	洗脱	6	100	240s	9	0	0	60s	0	50	自动	/	/
8	弃磁	5	800	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

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