

MagPure Serum/Plasma miRNA Kit

血浆血清 miRNA 抽提试剂盒

本产品适合于从小于 0.3ml 的液体生物样品中提取高纯度总 RNA(包括 miRNA)。试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 60 分钟。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR，定量 RT-PCR，Northern Blot,二代测序等应用。

产 品 组 份

● 瓶装试剂

产 品 编 号	R6628-00	R6628-01	R6628-02	R6628-03
纯化次数	24 次	48 次	96 次	5 x 96 次
MagPure Particles N	1.1 ml	2.5 ml	3.5 ml	17 ml
Buffer CFL	3 ml	10 ml	20 ml	60 ml
Buffer CFP	1.8 ml	2.5 ml	5 ml	20 ml
Buffer MGW1 *	30 ml	30 ml	60 ml	270 ml
Buffer MW2 *	10 ml	25 ml	50 ml	3 x 50 ml
RNase Free Water	10 ml	20 ml	30 ml	60 ml

保 存 条 件

本产品室温运输，长期保存时，把 MagPure Particles N 保存于 2-8℃，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	R6628-TL-06	R6628-S-48
Buffer CFL			20 ml	20 ml
Buffer CFP			5 ml	5 ml
DA-Tip			12 个	24 个
尖底板/ 试剂条	第 1/7 排孔：500µl 异丙醇(冰醋酸)		6 块	48 条
	第2/8排孔：500µl 洗涤液 MGW1			
	第3/9排孔：500µl 洗涤液 MGW1			
	第4/10排孔：500µl Buffer MW2			
	30µl MagPure Particles N			
	第5/11排孔：500µl Buffer MW2			
第6/12排孔：70µl RNase Free Water				

保 存 条 件

本产品室温运输保存，有效期 18 个月。

准备工作

MagPure Particles N 使用前需彻底重悬磁珠再使用。

Buffer MGW1 *和 Buffer MW2*使用前按标签添加无水乙醇再使用。

方案 1：实验步骤（手工）

1. **转移 400 μ l 血清、血浆、积液、体液至 1.5ml 离心管中，加入 140 μ l Buffer CFL，涡旋混匀 10 秒，室温静置 10 分钟。**
 - 血液、血水、积液、体积等样品，于 4℃，2,000 $\times$ g 离心 10 分钟去除脱落细胞，分离血浆、血清或无细胞的上清液。
2. **加入 40 μ l Buffer CFP，高速涡旋 20~30 秒或直至样品完全分散，冰上放置 3 分钟。**

加入 Buffer CFP 后会产生大量的沉淀物，充分涡旋打散沉淀物形成均一的浑浊液，以防止核酸被沉淀物包裹在一起而损失产量。
3. 4℃，15,000 $\times$ g 离心 10 分钟。
4. **转移 400 μ l 上清液至新离心管中，加入 30 μ l MagPure Particles NI 和 400 μ l 异丙醇（含 20 μ l 冰醋酸），室温振荡温育 10 分钟。转移至磁力架上，静置 2 分钟吸附磁珠。小心吸弃所有溶液。**
5. **加入 500 μ l Buffer MGW1，混匀 15 秒。**转移至磁力架上 1 分钟珠。小心吸弃所有溶液。
6. **加入 500 μ l Buffer MGW1，混匀 15 秒。**转移至磁力架上 1 分钟珠。小心吸弃所有溶液。
7. **加入 500 μ l Buffer MW2，涡旋混匀 15 秒。**转移至磁力架上 1 分钟珠。小心吸弃所有溶液。
8. **加入 500 μ l Buffer MW2，涡旋混匀 15 秒。**转移至磁力架上 1 分钟珠。小心吸弃所有溶液。
9. 短暂离心，收集管壁上的液滴。转移至磁力架上，小心吸弃所有溶液。空气干燥 10 分钟。
10. 加 50 μ l RNase Free Water，振荡 5-6 分钟。短暂离心收集管壁上的液滴。转移至磁力架上，静置 5 分钟。
11. 转移 RNA 溶液至新的 1.5ml 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. 转移 400µl 血清、血浆、积液、体液至新的离心管中，加入 140µl Buffer CFL，涡旋混匀 10 秒，室温静置 10 分钟。
 - 血液、血水、积液、体积等样品，于 4℃，2,000 x g 离心 10 分钟去除脱落细胞，分离血浆、血清或无细胞的上清液。
3. 加入 40µl Buffer CFP，高速涡旋 20~30 秒或直至样品完全分散，冰上放置 3 分钟。4℃，15,000 x g 离心 10 分钟。
 - 加入 Buffer CFP 后会产生大量的沉淀物，充分涡旋打散沉淀物形成均一的浑浊液，以防止核酸被沉淀物包裹在一起而损失产量。
4. 在第 1/7 排孔中，加入 400µl 上清液。
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)。
6. 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	吸磁	4	500	20s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合1	1	800	600s	8	0	0	90s	50	50	自动	/	/
3	清洗1	2	500	60s	8	0	0	90s	10	10	自动	/	/
4	清洗2	3	500	60s	8	0	0	90s	10	10	自动	/	/
5	清洗3	4	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗4	5	500	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	干燥	5	500	0	8	3	0	0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	300s	8	0	0	60s	0	50	自动	/	/
9	弃磁	5	750	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

7. 约 30 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
8. 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。