

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	R6611-00	R6611-01	R6611-02	R6611-03
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
10 x RBC Lysis Buffer	10 ml	50 ml	2 x 50 ml	4 x 100 ml
Proteinase K Solution	0.6 ml	0.6 ml	1.2 ml	6 ml
DNase I	300 μ l	600 μ l	2 x 600 μ l	10 x 600 μ l
DNase Buffer	15 ml	20 ml	30 ml	150 ml
MagPure Particles N	1.2 ml	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
Buffer RTL	15 ml	30 ml	60 ml	300 ml
Buffer MLBN	15 ml	40 ml	60 ml	300 ml
Buffer MW1 *	13 ml	22 ml	44 ml	220 ml
Buffer MW2*	10 ml	20 ml	50 ml	2 x 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 和 MagPure ParticlesN 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	R6611-TL-06	R6611-S-48
10 x RBC Lysis Buffer		2 x 50 ml	50 ml
Proteinase K Solution		1.2 ml	0.6 ml
DNase I		2 x 600 µl	600 µl
DNase Buffer		30 ml	15 ml
Buffer RTL		60 ml	30 ml
Buffer MLBN		60 ml	40 ml
DA-Tip		12 个	24 个
尖底板/ 试剂条	第 1/7 排孔: 350µl 异丙醇/20µl MPN	6 块	48 条
	第2/8排孔: 750µl 洗涤液 MW1		
	第3/9排孔: 空		
	第4/10排孔: 750µl Buffer MW2		
	第5/11排孔: 750µl 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 和 MagPure Particles N 保存于 2-8°C, DNase I 保存于 -20°C, 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

方案 1. 单管操作

1. 在 15ml 离心管中，加入 1~1.5ml 抗凝血液或 0.5~1ml 骨髓。加入 5 倍体积 1x RBC Lysis Buffer，颠倒混匀 5-10 次。冰上放置 10 分钟，其间颠倒混匀两次。
 - 试剂盒提供 10 x RBC Lysis Buffer，使用前须用灭菌水稀释至 1 x。病人血液的白细胞可能会上升，需调整血液用量，以确保白细胞数量不超过 1×10^7 。举例，1.5 ml 的血液，需加入 7.5 ml 1 x RBC Lysis Buffer。在放置过程中，血液会从雾状变成透亮的溶液。透亮的溶液就表明了红细胞已裂解。处理病人的血液时，有可能需要延长至 20 分钟。
2. 4°C，2,000 x g 离心 10 分钟，小心倒弃上清液。
3. 加入 2 倍体积 1 x RBC Lysis Buffer，涡旋重悬细胞。4°C，2,000 x g 离心 10 分钟。小心吸弃上清液，余下~50 μ l 残液和淋巴细胞，涡旋重悬淋巴细胞。
 - 培养细胞：取适量培养液至离心管中，2,000 x g 离心 5 分钟收集细胞，彻底去除培养基。余下~50 μ l 残液和淋巴细胞，涡旋重悬淋巴细胞。
4. 加入 500 μ l Buffer RTL，立即涡旋混匀 10 秒，然后再用 1ml 注射器吸打 5 次匀浆样品。
5. 转移 500 μ l 匀浆液至新的离心管中，加入 350 μ l 异丙醇和 20 μ l MagPure Particles N 至样品中，涡旋混匀 10 秒。室温放置 6 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。
6. 加入 500 μ l Buffer MW1，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
7. 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(230 μ l DNase Buffer + 10 μ l DNase I+10 μ l Proteinase K)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 MLBN 至样品，颠倒混匀 10~15 次，室温放置 8 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 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。
11. 加入 500 μ l Buffer MW2，涡旋 15 秒重悬磁珠。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
12. 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。
13. 加入 60 μ l 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

- 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。
- 在第 1/7 排孔中，加入 500 μ l 裂解液（方案 1 的第 1-5 步进行操作）。
- 在第 3/9 排孔中，加入 250 μ l DNase 混和液(230 μ l DNase Buffer +10 μ l DNase I+10 μ l Proteinase K)。
- 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	900	300s	8	0	0	90s	30	30	自动	/	/
2	清洗1	2	750	90s	8	0	0	60s	10	10	自动	/	/
3	干燥	2	750	0	0	90s/晾干		0	0	0	自动	/	/
4	酶解	3	300	600s	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
5	暂停	3	300	0	0	暂停		0	0	0	自动	/	/
6	结合2	3	800	300s	8	0	0	90s	15	15	自动	/	/
7	清洗2	4	750	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
8	清洗3	5	750	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
9	干燥	5	750	0	8	3	0	0	0	0	自动	/	/
10	洗脱	6	100	300s	8	0	0	60s	0	50	自动	/	/
11	弃磁	5	750	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

- 约 20 分钟，提取暂停。
- 取出 96 孔板，在第 3/9 排孔中，加入 500 μ l Buffer MLBN。
- 继续执行程序，约 30 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
- 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。