

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	R6612-00	R6612-01	R6612-02	R6612-03
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
HiPure DNA Mini Column	24	48	96	480
2ml Collection Tube	24	48	96	480
Proteinase K Solution	1.2 ml	2.5 ml	5 ml	22 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 MLBN	15 ml	30 ml	60 ml	300 ml
Buffer MBR1	15 ml	30 ml	60 ml	300 ml
Buffer MBR2	15 ml	30 ml	30 ml	150 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	120 ml	250 ml	500 ml	5 x 500 ml

保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K Solution 和 MagPure ParticlesN 保存于 2-8 $^{\circ}$ C，DNase I 保存于 -20 $^{\circ}$ C，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	R6612-TL-06	R6612-S-48
HiPure DNA Mini Column		96	48
2ml Collection Tube		96	48
RNase Free Water		500 ml	250 ml
Proteinase K Solution		5 ml	2.5 ml
DNase I		2 x 600 μ l	600 μ l
DNase Buffer		30 ml	15 ml
Buffer MBR1		60 ml	40 ml
Buffer MBR2		30 ml	20 ml
Buffer MLBN		60 ml	30 ml
DA-Tip		12 个	24 个
尖底板/ 试剂条	第 1/7 排孔: 400 μ l 异丙醇/20 μ l MPN	6 块	48 条
	第 2/8 排孔: 750 μ l 洗涤液 MW1		
	第 3/9 排孔: 空		
	第 4/10 排孔: 750 μ l Buffer MW2		
	第 5/11 排孔: 750 μ l Buffer MW2		
	第 6/12 排孔: 70 μ l 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 N 保存于 2-8 $^{\circ}$ C, DNase I 保存于 -20 $^{\circ}$ C, 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

方案 1. 单管操作

1. 取出 Paxgene Tube 或 RNAsafer LS Reagent 保存的样品，室温静置 2 小时恢复至室温（室温保存样品无需静置）。室温，3,000-5,000 x g 离心 10 分钟收集沉淀，倒弃上清液。
2. 加入 4ml RNase Free Water，剧烈涡旋 15~30 秒打散沉淀团。室温，3,000-5,000 x g 离心 10 分钟收集沉淀。倒弃上清液，短暂离心，吸尽全部残液。
3. 加入 400µl Buffer MBR1 至沉淀团中，高速涡旋 15 秒打散沉淀。
4. 加入 200µl Buffer MBR2 和 40µl Proteinase K Solution，55°C 高速振荡温育 15 分钟。
5. 取 DNA 过滤柱装在 2ml 收集管中，把混合液转移至柱子中，13,000 x g 离心 1 分钟。
6. 转移 600µl 滤液至新的离心管中，加入 400µl 异丙醇和 20µl 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 2 分钟，倒弃或吸弃溶液。
7. 加入 500µl 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。
8. 短暂离心再吸尽所有的残液。空气干燥 2 分钟。
9. 加入 250µl DNase 混和液(240µl DNase Buffer +10µl DNase I 至样品中，室温温和振荡 15~20 分钟消化去除 DNA。
10. 加入 500µl 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。
11. 加入 500µl 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。
12. 加入 500µl 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。
13. 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。
14. 加入 60µl 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 600 μ l 裂解液（方案 1 的第 1-5 步进行操作）。
3. 在第 3/9 排孔中，加入 250 μ l DNase 混和液[240 μ l DNase Buffer + 10 μ l DNase I]。
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)。
5. 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	750	20s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	结合1	1	900	300s	7	0	0	90s	30	30	自动	/	/
3	清洗1	2	750	90s	8	0	0	90s	10	10	自动	/	/
4	干燥1	2	750	0	0	90s/晾干		0	0	0	自动	/	/
5	酶解	3	300	600s	8	0	0	0	0	0	自动	/	/
6	暂停	3	300	0	0	暂停		0	0	0	自动	/	/
7	结合2	3	800	240s	8	0	0	90s	15	15	自动	/	/
8	清洗2	4	750	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
9	清洗3	5	750	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
10	干燥2	5	750	0	8	3	0	0	0	0	自动	/	/
11	洗脱	6	100	240s	8	0	0	60s	0	50	自动	/	/
12	弃磁	5	750	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

6. 约 30 分钟，提取暂停。
7. 取出 96 孔板，在第 3/9 排孔中，加入 500 μ l Buffer MLBN。
8. 继续执行程序，约 30 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℃。