

## 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                | R6613-01    | R6613-02        | R6613-03         |
|---------------------|-------------|-----------------|------------------|
| 纯化次数                | 48 次        | 96 次            | 480 次            |
| DNase I             | 600 $\mu$ l | 2 x 600 $\mu$ l | 10 x 600 $\mu$ 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/<br>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 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

- 在 5-15ml 离心管中，加入 1.3ml MagZol 3BD。
- 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 10~15 秒充分打散样品，高速涡旋 15 秒形成均一的匀浆液，室温放置 3 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°C 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, 60°C 高速振荡 (1200-1500rpm) 温育 10 分钟。该裂解物可以在 -70°C 下储存至少 2 年, 在 -20°C 下至少 6 个月, 在 2~8°C 下至少 15 天, 室温 7 天。

- **富含 DNA 的样品:** 处理富含 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 $\mu$ l。先转移 300~500 $\mu$ l 样品至 10-15ml 离心管中, 加入灭菌水或 RNase Free Water 补足至 1000 $\mu$ 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. 60°C 水浴 10 分钟, 其间颠倒混匀 1 次。
  4. 可选: 加入 160 $\mu$ 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。
  5. 室温下, 4,500~5,000 x g 离心 15 分钟。
  6. 转移 1.0ml 上清液至 2.0ml 离心管中, 加入 700 $\mu$ l 异丙醇和 30 $\mu$ 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。
  7. 加入 500 $\mu$ l DNase 混和液(490 $\mu$ l DNase Buffer C +10 $\mu$ 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。
  8. 加入 500 $\mu$ 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。
  9. 加入 500 $\mu$ 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. 加入 500 $\mu$ 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. 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。
  12. 加入 50~100 $\mu$ 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 1-5 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 $\mu$ l 上清液。
4. 在第 3/9 排孔中，加入 10 $\mu$ l 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  | 干燥 1 | 3  | 500 | 0    | 0  | 2min/晾干 |    | 0    | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 4  | 酶解   | 3  | 500 | 600s | 8  | 0       | 0  | 60s  | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 5  | 清洗 1 | 4  | 500 | 90s  | 8  | 0       | 0  | 60s  | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 6  | 清洗 2 | 5  | 500 | 90s  | 8  | 0       | 0  | 60s  | 0  | 0  | 自动 | /  | /  |
| 7  | 干燥 2 | 6  | 100 | 0    | 0  | 4min/晾干 |    | 0    | 0  | 0  | 0  | 0  | 0  |
| 8  | 洗脱   | 6  | 100 | 240s | 9  | 0       | 0  | 60s  | 0  | 50 | 自动 | /  | /  |
| 9  | 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℃。