

磁珠法血液 RNA 提取试剂盒说明书

产品组成

磁珠法血液 RNA 提取试剂盒	50 次	100 次
Cat. No.	M007050	M007100
Buffer L9	55 ml	55 ml×2
Buffer MG	23 ml	45 ml
Buffer WBR（浓缩液）	30 ml	30 ml×2
RNase-free Water	2 ml×3	10 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

Buffer L9 可室温运输，收到后请于 2~8℃储存，其他试剂与物品储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从 500 μl 新鲜收集的或者是 - 80℃冻存的 EDTA 抗凝全血或骨髓中分离纯化总 RNA。试剂盒提供的试剂可预先分装到 2.2 ml 的 96 深孔板中，配合磁珠法核酸自动化提取仪，抗凝全血经 Buffer L9 预处理后，只需将预处理后的血样上清液加入装有 Buffer MG 的孔中，即可由仪器自动化完成样本中血液总 RNA 的释放、吸附、洗涤及洗脱等一系列过程，最后获得的血液总 RNA 溶解在第 6 列和第 12 列的孔中，并可立即用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 2 ml 离心管，96 深孔板（2.2 ml），如果用户需要预分装好试剂的 96 深孔板及磁力套，请另购产品序号为 M007064 的预分装磁珠法血液 RNA 提取试剂盒
3. RNase-free 移液器及吸头（为避免样品间的污染，请选用含有滤芯的移液器吸头）
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 旋涡振荡器、台式少量离心机（可配离心 1.5 ml 和 2 ml 离心管的转子）和磁珠法核酸自动化提取仪

使用前准备

1. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。
2. 由于唾液、皮肤上均含有 RNA 酶，请在 RNA 提取的全过程中都戴口罩和乳胶手套。
3. 尽量使用离体 3 小时内的新鲜全血或者骨髓进行 RNA 提取，否则将因为 RNA 的降解而影响最终 RNA 的回收量。如果不能及时将新鲜的全血进行 RNA 提取，可将全血于 - 80℃冻存或者用 Buffer L9 溶解后于 - 20℃冻存。（详见操作步骤 3）

操作步骤

1. 开启核酸自动化提取仪，按下图步骤设置好程序。

步骤	孔位	液量 (μL)	浸泡 (秒)	搅拌强度 (级)	搅拌时间 (秒)	下降吸磁 (秒)	液底吸磁 (秒)	吸磁次数 (次)	等待时间 (秒)	暂停 关/开 0/1	板1裂解 (°C)	板1洗脱 (°C)	板2裂解 (°C)	板2洗脱 (°C)
1~99	1~6	20~1200	0~255	1~6	0~9999	5~600	0~255	0~255	0~9999		0~125	0~125	0~125	0~125
1	1	1100	0	4	180	45	3	1	0	0	0	0	0	0
2	2	800	0	4	60	30	3	1	0	0	0	0	0	0
3	3	800	0	4	60	30	3	1	0	0	0	0	0	0
4	4	1000	0	4	60	30	3	1	120	0	0	0	0	0
5	6	80	0	4	120	30	3	1	0	0	0	85	0	85
6	3	800	0	4	60	5	1	0	0	0	0	0	0	0

* 上述程序是根据本公司的核酸自动提取仪（Cat. No. Sim-300）设计，如果用于其他公司仪器，请根据仪器特点适当调整程序中的各个参数，或者拨打 400-0099-857 电话获取技术支持。

2. 按步骤 A~E 在 96 深孔板中预分装试剂：

A. 用力摇晃装有 Buffer MG 的试剂瓶使溶液中的磁珠被充分悬浮，在 96 深孔板第 1 列和第 7 列每孔加入 400 μl Buffer MG；

* 必须充分悬浮 Buffer MG 中的磁珠后分装试剂，否则可能导致后续 RNA 回收效率不均一。

B. 在 96 深孔板第 2 列和第 8 列每孔加入 900 μl Buffer WBR；

C. 在 96 深孔板第 3 列和第 9 列每孔加入 900 μl Buffer WBR；

D. 在 96 深孔板第 4 列和第 10 列每孔加入 1 ml 无水乙醇；

E. 在 96 深孔板第 6 列和第 12 列每孔加入 80 μl RNase-free Water；

注意：试剂分装完成后，应立即进行血液 RNA 的提取，否则 Buffer WBR 中的乙醇可能挥发，导致最终提取的核酸纯度降低。

3. 在 2 ml 离心管中加入 1 ml Buffer L9，再加入 500 μl 全血或骨髓（EDTA 抗凝），用力摇晃 5-10 次混合血样，再旋涡振荡 30 秒混合均匀。13000 rpm 离心 5 分钟。

* Buffer L9 具有腐蚀性，请戴防护用品进行操作。

* 全血与 Buffer L9 接触后会产生凝集块，必须先用力摇晃使其分散开来，否则会影响 RNA 的释放。

* 如果不能及时将新鲜采集的全血或者骨髓进行 RNA 提取，可将全血或者骨髓于 -80°C 冻存，冻存一年内的样本不影响 RNA 的提取。注意不要反复冻融样本，从冻融超过一次的样本中提取 RNA 就会观察到降解的 RNA 带型，如果要反复使用，请将样本分装成小份冻存。

* 若没有 -80°C 冰箱，可在本步骤将溶解后的全血或骨髓于 -20°C 冻存，两个星期内不影响 RNA 的提取效率。

4. 在已分装好试剂的 96 深孔板中的第 1 列和第 7 列各孔中加入 700 μl 离心上清液，将 96 深孔板放入核酸自动化提取仪中，插入磁棒套，稍用力推到底，安装到位后有轻微的“咔嗒”声，点击“运行”。

5. 仪器运行结束后，取出 96 深孔板，收集转移第 6 列和第 12 列中的 RNA 到 RNase-free 的离心管中或直接用封口膜封住 96 深孔板，储存到 -70°C 以下备用。