

## 核酸提取或纯化试剂说明书

**【产品名称】** 核酸提取或纯化试剂（磁珠法）

**【包装规格】** 24T/盒、48T/盒

**【预期用途】** 用于核酸的提取、富集、纯化步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。产品组成中不含可与样本特异性结合的抗原、抗体、探针成分。

**【原理】** 本试剂盒适用于从新鲜或冷冻的全血（用柠檬酸盐，EDTA或肝素等抗凝剂处理过的血液样品）样本中提取总RNA，采用特异性结合RNA的纳米磁珠和独特的缓冲液体系。硅羟基纳米磁珠能高效、专一吸附RNA，可最大限度去除杂质蛋白等，提取的RNA纯度高，质量稳定，没有蛋白质和其他杂质污染，可直接用于下游实验。

### 【组成成份】

货号	271602-24	271602-48	
试剂盒规格	24T	48T	
蛋白酶 K	3.8mL	7.5mL	Kit 1 储存-20℃
DNA 酶 I (2U/μL)	125μL	250μL	
DNA 酶 I 缓冲液	5mL	5mL	
Buffer Lysis	1T/条试剂×24	1T/条试剂×48	Kit 2 储存 15-30℃
Buffer WA			
RNA 漂洗液			
磁珠 (50mg/mL)			
DEPC 洗脱液	5mL	5mL	
磁套	3 包 (2 个/包)	6 包 (2 个/包)	
说明书	1 份	1 份	

### 【储存注意事项】

- 1、Kit 1 放置 -20℃ 保存；为避免DNA酶冻融不超过5次，可以解冻后进行分装成小包装；
- 2、Kit 2 放置室温（15-30℃）保存；
- 3、试剂盒有效期为 12 个月，请在有效期内使用。
- 4、2ml离心管需要自己准备，灭菌处理，用来洗脱RNA。
- 5、100%异丙醇需要客户自备。

### 【预防 RNase 污染的注意事项】

为防止在提取 RNA 过程中外源 RNA 酶的污染，必须采取以下措施：

- 1、戴一次性干净手套和口罩操作，防止皮肤、唾液和实验室用品上存在的 RNase 污染。
- 2、使用无菌无 RNase 的塑料制品和 Tip 头。
- 3、若使用玻璃器皿须经过 0.1%DEPC 水在 37℃ 下浸泡 12 小时，然后经过 121℃ 高压灭菌 30 分钟，烘干后使用。
- 4、配制相应的试剂必须使用经过 121℃ 高压灭菌的 0.1%DEPC 水。

### 【适用设备与仪器】

MDX-12全自动核酸提取仪

## 【操作方法】

### 实验前准备:

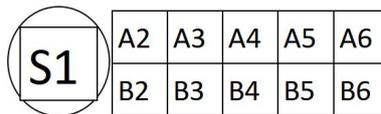
1、根据样品数量N，准备DNase I工作液 = (5 $\mu$ L DNA 酶 I + 95 $\mu$ L DNA 酶 I 缓冲溶液)\*N

注: ① DNase I 反应混合液尽量现用现配，避免酶活性降低;  
② DNase I 配制前请短暂离心，将管壁上的液体离心至底部。

2、跟据样品数量N，准备N个2mL离心管，加入DEPC洗脱液 65 $\mu$ L，备用。

### 操作步骤:

1、如图：将试剂条从试剂盒中取出，上下颠倒混匀磁珠后，轻甩使液体流至管底，避免影响撕开口膜。



试剂条图示

2、在试剂条的S1孔加入全血1.5 mL后用枪头抽打混匀样本;

3、然后再加入蛋白酶K 150  $\mu$ L和1.5mL异丙醇，将试剂条放入MDX-12核酸提取仪的卡槽位，将含有DEPC洗脱液的2mL离心管放在仪器S7位置。

3、运行核酸提取仪程序

步骤	孔位	暂停	步骤名称	等待时间 Min:Sec	混合时间 Min:Sec	吸磁时间 sec	容积 $\mu$ l	混合速度	加热设置	温度 $^{\circ}$ C
1	B2	×	移磁	0:0	0:00	50	800	快	关闭	0
2	S1	×	裂解	0:0	20:00	240	6250	(中)	关闭	0
3	B2	×	漂洗1	0:0	1:00	40	800	快	关闭	0
4	B3	×	漂洗2	0:0	1:00	40	800	快	关闭	0
5	B4	×	漂洗3	0:0	1:00	40	800	快	关闭	0
6	B5	×	漂洗4	0:0	1:00	40	800	快	关闭	0
7	B6	×	漂洗5	0:0	1:00	40	800	快	关闭	0
8	A2	×	去基因组	2:0	10:00	40	100	快	关闭	0
9	A3	×	漂洗6	0:0	1:00	40	800	快	关闭	0
10	A4	×	漂洗7	0:0	1:00	40	800	快	关闭	0
11	A5	×	漂洗8	0:0	1:00	40	800	快	关闭	0
12	A6	×	漂洗9	0:0	1:00	40	800	快	关闭	0
13	S7	×	洗脱	1:0	5:00	120	120	快	开	50
14	A6	×	弃磁	0:0	0:20	0	800	快	关闭	0

4、程序结束后，将2mL离心管取出置于-80 $^{\circ}$ C或进入下一步实验（如果有磁珠可以通过离心或者磁吸方式去除），其他耗材从仪器取出后，按照医疗器械废物处理。

## 【RNA纯度和浓度的测定】

**完整性:** RNA的完整性可以用普通的琼脂糖凝胶检测到电泳（电泳条件：凝胶1.2%；0.5 $\times$ TBE电阻缓冲液；150V、15min）。细胞rRNA中70-80%电泳后在紫外光下可见非常明显的rRNA条带，大小约为5kb和2kb，分别相当于28S和18SrRNA。

**纯度：**OD260/OD280 是衡量蛋白质污染程度的指标。对于高质量RNA，OD260/OD280值在1.8~2.1之间，比值为2.0是高质量RNA的标记。OD260/OD280值受用于测定的溶液的pH值的影响。对于相同的RNA为例，假设在10mM Tris和pH7.5溶液中测量的OD260/OD280值分别为1.8和2.1，在水溶液中测量的值可能在1.5到1.9之间，但这并不意味着RNA是不纯的。

**浓度：**取一定量的纯化RNA，用无RNase dd H<sub>2</sub>O稀释n次，用无RNase dd H<sub>2</sub>O空白分光光度计，测量稀释剂的OD260和OD280值，按以下公式计算RNA浓度：最终浓度 (ng/μL) = (OD260) × (稀释因子n) ×40

### 【基本信息】

生产企业：广州赛百纯生物科技有限公司

地址：广州市黄埔区联浦街 16 号 402 房

服务热线：020-84783894

网址：<http://www.surbiopure.com>