

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	271602-2F24	271602-2F48	
试剂盒规格	24T	48T	
Buffer Lysis	1T/条试剂×24	1T/条试剂×48	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、室温运输，放置室温（15-30℃）保存；
- 2、试剂盒有效期为 12 个月，请在有效期内使用。
- 3、2ml离心管需要自己准备，灭菌处理，用来洗脱RNA。
- 4、DTT 需要自备或联系厂家采购（Cat No.A-1064）。
- 5、缓冲溶液PBS、DNase I（2U/μL）（无RNase分子级）需要自备或联系厂家采购Cat No.1416026。

【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。
- 5、0.15g DTT加入1mL去离子水进行稀释，混匀得到浓度1mol/L DTT溶液。DTT溶液建议现配现用，配制好的DTT溶液当次未用完，可存放2-8℃ 14天。若长期储存置于-20℃，保存1年，避免反复冻融，冻融不超过5次。未溶解的DTT粉末可-20℃长期保存。

【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、取无RNase的DNase I (2U/μL) (自备)10 μL到试剂条孔A2中。

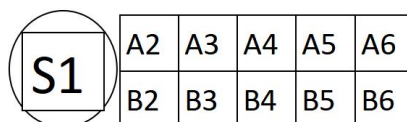
注意: 不同厂家的DNase I 的浓度不同, 请仔细阅读说明书, 每个孔A2内加入酶的总量为20U, 可以根据不同的浓度进行换算:

- ① DNase I浓度为5U/μL的浓度, A2孔只需要加入4μL;
- ② DNase I浓度为1U/μL的浓度, A2孔只需要加入20μL;

2、跟据样品数量N, 准备N个2mL离心管, 加入DEPC洗脱液 70~105 μL, 备用 (全血推荐使用70μL洗脱, 骨髓血推荐使用90~105μL)。

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, 避免影响撕开封口膜。



试剂条图示

2、在试剂条的S1孔加入全血1 mL或骨髓血300 μL 和60 μL DTT溶液;

3、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。

4、插入磁棒套, 运行核酸提取仪程序 (转速121rpm、液内搅拌)

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 μl	混合速度	加热设置	温度 ℃
1	B2	×	移磁	0:0	0:00	40	800	快	关闭	0
2	S1	×	裂解	0:0	20:00	120	4060	(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	200	慢	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	60	120	慢	开	50
14	A6	×	弃磁	0:0	0:20	0	800	快	关闭	0

5、程序结束后, 将 2mL离心管取出, 置于-80℃或进入下一步实验 (如果有磁珠可以通过12000 rpm 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。

注意1: 部分骨髓样本细胞含量过高，磁珠肯定残留，后续有磁珠残留的离心管，用移液器加入20~100 μ L DEPC 水（推荐超微量分光光度计测量后，通过逐步增加DEPC水的方式进行稀释），涡旋震荡混匀，12000 rpm离心1min，转移至新的1.5mL 离心管备用。

注意 2: 骨髓样本优选使用量程为 200 的移液器加样，移液时明显阻尼的骨髓血液，其细胞数量过高会影响后续 DNA 酶 I 消化，调整移液枪量程至 50ul，移取 50ul 样本至 1.5m 离心管中，加入 250ul PBS 缓冲溶液或 250ul 生理盐水混匀后，转移所有样本到孔 S1 中。

【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 H₂O稀释n次，用无RNase dd H₂O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/ μ L）=（OD260） $\times$ （稀释因子n） $\times$ 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>

【备案信息】

粤穗械备20250359