

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	271602-2G24	271602-2G48	
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			
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，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】

Auto20B全自动核酸提取仪

【操作方法】

实验前准备:

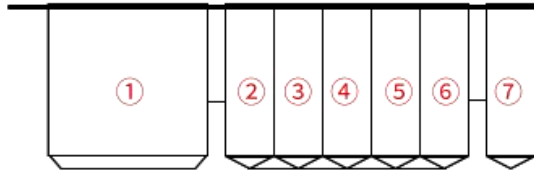
取无RNase的DNase I (2U/μL) 10 μL到试剂条孔4中。

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;

操作步骤:

- 1、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。



- 2、在试剂条的1孔加入全血1 mL或骨髓血300μL和60 μL DTT溶液;
- 3、将试剂条放入Auto20B核酸提取仪的卡槽位, 插入磁棒套, 运行核酸提取仪程序。

表1 核酸提取程序

步骤	孔位	步骤名称	混合时间 Min:Sec	吸磁时间 sec	等待时间 Min:Sec	容积 μl	混合速度	温度 ℃
1	1	Lysis	20:00	60	0:00	4060	9	OFF
2	2	wash1	2:00	30	0:00	1000	9	OFF
3	3	wash2	2:00	30	1:00	1000	9	OFF
4	4	enzy	10:00	30	0:00	200	8	OFF
5	5	wash3	2:00	30	0:00	1000	10	OFF
6	6	wash4	2:00	30	2:00	1000	10	OFF
7	7	elute	3:00	60	0:00	100	9	50
8	6	drop	0:10	0	0:00	800	10	OFF

- 2、程序结束后, 将第7孔的洗脱液转移到离心管中, 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, 后续有有磁珠残留的离心管, 用移液器加入20~100μL 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200μL的移液器加样, 移液时明显阻尼的骨髓血液, 改量程至50μL后, 移取50μL样本至1.5mL离心管中, 加入250μLPBS缓冲溶液或250μL生理盐水混匀后, 转移所有样本到孔1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×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/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>

【备案信息】

粤穗械备20250359