

# 血液 RNA 提取试剂盒

Blood RNA Extraction Kit



**产品货号:** M7420S, M7420M

**产品规格:** 10 rxns, 100 rxns

**储存条件:** DNase I、10×Reaction Buffer 保存于-20°C, 其他试剂 2~35°C保存, 有效期见外包装

**应用范围:** 用于从抗凝处理的新鲜全血样本中提取总 RNA

## 产品组分

组分	组分含量	
	M7420S	M7420M
A. 磁珠悬液	0.2 mL	2 mL
B. 裂解液	4 mL	40 mL
C. 洗涤液 I	6 mL (首次使用前加入 6 mL 异丙醇)	60 mL (首次使用前加入 60 mL 异丙醇)
D. 洗涤液 II	4 mL (首次使用前请加入 16 mL 无水乙醇)	40 mL (首次使用前请加入 160 mL 无水乙醇)
E. 洗脱液	2 mL	20 mL
F. 蛋白酶 K	4 mg (首次使用前请加入 0.2 mL 溶液 A)	40 mg (首次使用前请加入 2 mL 溶液 A)
G. 溶液 A	0.2 mL	2 mL
H. 脱氧核糖核酸酶 I (DNase I)	0.1 mL	1 mL
I. 反应缓冲液 (10× Reaction Buffer)	0.1 mL	1 mL

## 产品介绍

用于从抗凝处理的新鲜全血样本中提取总 RNA。其处理后的产物用于临床体外检测使用。本产品使用超顺磁性微球可以特异性的吸附核酸, 通过 DNase I 处理去除 DNA, 通过洗涤去除蛋白质、盐类等杂质, 洗脱液解离吸附在磁珠上的 RNA, 分离纯化得到高质量 RNA。

## 适用仪器

本试剂盒适用于 Thermo KingFisher Flex24 等大体积自动化核酸提取仪, 也适用于手动提取。

## 实验步骤

### 一. 首次使用前

1. 在洗涤液 I 中加入瓶身标签指定量的异丙醇 (分析纯), 并于“□”内打上“√”, 混匀。



UElandy Inc.

Tel:0512-88965152

Web:www.uelandy.com

2. 在洗涤液 II 中加入瓶身标签指定量的无水乙醇（分析纯），并于“□”内打上“√”，混匀。
3. 在蛋白酶 K 中加入瓶身标签指定量的溶液 A，并于“□”内打上“√”，混匀后保存于-20°C。

## 二. 客户自备物品

1. 异丙醇（分析纯）
2. 1.5 mL 离心管：RNase-free
3. 单通道移液器：20  $\mu$ L、200  $\mu$ L、1000  $\mu$ L
4. 漩涡振荡器
5. 磁性分离器：可选用 UE 磁性分离器（货号：M7429）。

注：每次使用前，试剂盒与样本需平衡至室温。

## 三. 手动提取流程

1. 准备 DNase I 反应液：取一个 1.5 mL 离心管，根据样本数 N，依次加入  $80 \times N$   $\mu$ L 的洗脱液、 $10 \times N$   $\mu$ L 的  $10 \times$  Reaction Buffer、 $10 \times N$   $\mu$ L 的 DNase I，使用移液枪缓慢吸移 20 次或缓慢上下颠倒离心管 20 次混匀后待用。

注意：DNase I、DNase I 反应液不可涡旋！

2. 裂解：取新的 1.5 mL 离心管，分别加入 200  $\mu$ L 全血样本（不足 200  $\mu$ L 时可用 PBS 或生理盐水补足），再分别加入 400  $\mu$ L 裂解液和 20  $\mu$ L 蛋白酶 K，以漩涡振荡器最大转速涡旋震荡 2 min。

3. 结合：在离心管内分别加入 200  $\mu$ L 异丙醇和 20  $\mu$ L 磁珠悬液，以漩涡振荡器最大转速涡旋震荡 2 min，室温静置 15 min（间隔 5 min 涡旋震荡 30 s）。然后将离心管置于磁性分离器上放置 1 min，用移液枪吸弃上清液并取下离心管。

### 4. 洗涤

- a. 在离心管内分别加入 600  $\mu$ L 洗涤液 I（检查是否已加入异丙醇），以漩涡振荡器最大转速涡旋震荡 2 min，使磁珠充分重悬（如发现磁珠粘壁，可使用移液枪吸取管内的洗涤液 I 反复吹打下管壁磁珠后再涡旋震荡 2 min），将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液枪吸弃上清液并取下离心管。

### b. 重复步骤 a。

- c. 在离心管内分别加入 600  $\mu$ L 洗涤液 II（检查是否已加入无水乙醇），以漩涡振荡器最大转速涡旋震荡 2 min，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液枪吸弃上清液后室温静置 3 min，取下离心管。

### 5. DNase I 处理

- a. 在离心管内分别加入 100  $\mu$ L DNase I 反应液，使用移液枪吸取管内的 DNase I 反应液反复吹打下管壁磁珠，确认管壁上所有磁珠都被吹打入反应液后再缓慢吸移反应液 20 次使磁珠重悬。

### b. 室温静置 15~30 min。

### 6. 洗涤

- a. 在离心管内分别加入 600  $\mu$ L 洗涤液 II，以漩涡振荡器最大转速涡旋震荡 3 min，室温静置 5 min。将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液枪吸弃上清液并取下离心管。

- b. 在离心管内分别加入 600  $\mu$ L 洗涤液 II，以漩涡振荡器最大转速涡旋震荡 2 min，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液枪吸弃上清液。

7. 干燥：保持离心管于磁性分离器上，室温静置 5 min 后，取下离心管。

注意：干燥过程中若发现反应管中有液体残留时，可用小量程移液器吸弃液体。

8. 洗脱：在离心管内分别加入 50-100  $\mu$ L 洗脱液，以漩涡振荡器最大转速涡旋震荡 2 min，室温静置 5 min。将离心管置于



UElandy Inc.

Tel:0512-88965152

Web:www.uelandy.com

磁性分离器上直至溶液澄清，转移上清液至新的离心管中，此即为纯化得到的 RNA，可保存于-70℃。

#### 四. 自动化提取流程

根据不同型号自动化核酸提取仪而定，详情请咨询我司技术支持或设备厂家技术支持。

#### 注意事项

1. 操作之前，请务必认真阅读本产品手册。
2. 血液样本的质量对产物 RNA 的完整性有较大影响，应使用新鲜抗凝处理的全血样本，新鲜全血样本可暂存于 2~8℃，避免冻融，应及时处理。
3. 应避免对磁珠进行冷冻、高速离心等操作。磁珠每次取用前应充分重悬均匀。
4. 应避免磁珠过度干燥，否则会严重降低核酸洗脱效率。
5. 应使用无 RNase 的离心管和枪头。
6. 操作人员戴一次性口罩和手套，实验过程中要勤换手套。
7. 本产品为一次性使用，使用后请按医疗垃圾进行处理。
8. 使用前请检查各组分是否存在析出情况，如有析出，请将试剂瓶置于60℃水浴加热溶解后使用。

