

MagPure PX Blood RNA&miRNA Kit

磁珠法 Paxgene RNA&miRNA 提取试剂盒

本产品适合于从抗凝血液、淋巴细胞、白膜层、骨髓、培养细胞等样品提取 RNA 和 miRNA。本产品基于高结合力的纳米磁性粒子的纯化方式。样品在裂解液和蛋白酶的作用下裂解消化，RNA/DNA 释放到裂解液中。加入结合液和磁性粒子吸附 RNA/DNA，而蛋白质则不被吸附而去除。吸附了 DNA/RNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和其它杂质，再经含乙醇洗涤去除盐分，然后加入 DNase 消化去除 DNA，加入结合液回收 RNA，最后 RNA 被低盐缓冲液洗脱。洗脱的 RNA 可直接用于 RT-PCR、病毒检测等实验。

产品组份 (瓶装试剂)

| 产品编号 | R6612-00B | R6612-01B | R6612-02B | R6612-03B |
|-----------------------|-------------|-------------|-----------------|------------------|
| 纯化次数 | 24 次 | 48 次 | 96 次 | 480 次 |
| Proteinase K Solution | 0.6 ml | 1.2 ml | 2.5 ml | 11 ml |
| DNase I | 300 μ l | 600 μ l | 2 x 600 μ l | 10 x 600 μ l |
| DNase Buffer | 15 ml | 20 ml | 30 ml | 150 ml |
| MagPure Particles N | 1.2 ml | 1.2 ml | 2.5 ml | 11 ml |
| Buffer MLBN3 | 15 ml | 30 ml | 60 ml | 300 ml |
| Buffer PXL | 15 ml | 30 ml | 60 ml | 300 ml |
| Buffer MW1 * | 13 ml | 22 ml | 44 ml | 220 ml |
| Buffer MW2 * | 10 ml | 20 ml | 50 ml | 2 x 100 ml |
| RNase Free Water | 5 ml | 10 ml | 20 ml | 60 ml |

保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 MagPure Particles N 保存于 2-8 $^{\circ}$ C，Proteinase K Solution 和 DNase I 保存于 -20 $^{\circ}$ C，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产品组份

- 预分装试剂, 版本, 尖底板

| 货号 | 试剂组份与装量 | R6612B-TL-06 | R6612B-S-48 |
|-----------------------|----------------------------------|--------------|-------------|
| RNase Free Water | | 15 ml | 15 ml |
| Proteinase K Solution | | 5 ml | 2.5 ml |
| DNase I | | 2 x 600 µl | 600 µl |
| DNase Buffer | | 30 ml | 15 ml |
| Buffer PXL | | 60 ml | 40 ml |
| Buffer MLBN3 | | 60 ml | 30 ml |
| DA-Tip | | 12 个 | 24 个 |
| 尖底板/ 试剂条 | 第 1/7 排孔: 500µl 异丙醇/20µl MPN | 6 块 | 48 条 |
| | 第 2/8 排孔: 500µl 洗涤液 MW1 | | |
| | 第 3/9 排孔: 空 | | |
| | 第 4/10 排孔: 500µl Buffer MW2 | | |
| | 第 5/11 排孔: 500µl Buffer MW2 | | |
| | 第 6/12 排孔: 70µl RNase Free Water | | |

保存条件

本产品室温运输, 长期保存时, 把 Proteinase K Solution 和 DNase I 保存于-20℃, 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

方案 1. 单管操作

1. 取出 Paxgene Tube 或 RNASafer LS Reagent 保存的样品取出 Paxgene Tube 或 RNASafer LS Reagent 保存的样品，室温静置 2 小时恢复至室温（室温保存样品无需静置）。室温下，3,000-5,000 x g 离心 10 分钟收集 RNA 沉淀，倒弃上清液，反扣于吸水纸轻轻拍打让残液完全流尽。
若管壁上仍有较多残液，短暂离心后用移液枪吸尽所有的残液。残液超过 50 μ l 时会明显影响 RNA 产量。
2. 加入 500 μ l Buffer PXL 和 20 μ l Proteinase K Solution，55 $^{\circ}$ C 高速振荡温育 15 分钟。13,000 x g 离心 3 分钟去除未消化样品。
3. 转移 450 μ l 上清液至新的离心管中，加入 450 μ l 异丙醇和 20 μ l MagPure Particles N 至样品中。颠倒混匀 10-15 次，室温放置 6 分钟，其间颠倒混匀数次。转移至磁力架上吸附 2 分钟，倒弃或吸弃溶液。
4. 加入 500 μ l Buffer MW1，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。短暂离心再吸尽所有的残液。空气干燥 2 分钟。
5. 加入 250 μ l DNase 混和液(240 μ l DNase Buffer +10 μ l DNase I 至样品中，室温温和振荡 15~20 分钟消化去除 DNA。
6. 加入 500 μ l Buffer MLBN3 至样品，颠倒混匀 10~15 次，室温放置 8 分钟，其间混匀 3~5 次。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
7. 加入 500 μ l Buffer MW2，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
8. 加入 500 μ l Buffer MW2，涡旋 15 秒。转移至磁力架上吸附 1 分钟。倒弃或吸弃溶液。
9. 短暂离心。转移至磁力架上，吸弃所有的溶液。空气干燥 10 分钟。
10. 加入 60 μ l RNase Free Water 至样品中，涡旋打散磁珠。室温静置 3 分钟。转移至磁力架上吸附 3 分钟，把 RNA 转移至新的离心管中。

方案 2: 32/48 通道核酸提取仪操作

1. 瓶装试剂：按预分装试剂表格所示，按各种试剂分装至 96 孔板的对应孔中。
预分装试剂：颠倒 96 孔板让磁珠充分悬浮，正放 1 分钟后，去除封口袋和封口膜。
2. 在第 1/7 排孔中，加入 450 μ l 裂解液（方案 1 的第 1-4 步进行操作）。
3. 在第 3/9 排孔中，加入 250 μ l DNase 混和液[240 μ l DNase Buffer + 10 μ l DNase I]。
4. 把磁力外套插到仪器中，把 96 孔板放到仪器中(A1 孔按左内角放置)。
5. 编写程序，并启动对应程序。

| 序号 | 步骤名称 | 孔位 | 容积 | 混合时间 | | 等待 | | 磁吸时间 | | | 吸磁 | 加热 | |
|----|------|----|-----|------|----|--------|----|------|----|----|----|----|----|
| | | | | 时间 | 速度 | 时间 | 位置 | 升降 | 液面 | 底部 | | 板位 | 温度 |
| 1 | 吸磁 | 4 | 750 | 20s | 8 | 0 | 0 | 60s | 0 | 0 | 自动 | / | / |
| 2 | 结合1 | 1 | 900 | 300s | 7 | 0 | 0 | 90s | 30 | 30 | 自动 | / | / |
| 3 | 清洗1 | 2 | 750 | 90s | 8 | 0 | 0 | 90s | 10 | 10 | 自动 | / | / |
| 4 | 干燥1 | 2 | 750 | 0 | 0 | 90s/晾干 | | 0 | 0 | 0 | 自动 | / | / |
| 5 | 酶解 | 3 | 300 | 600s | 8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 自动 | / | / |
| 6 | 暂停 | 3 | 300 | 0 | 0 | 暂停 | | 0 | 0 | 0 | 自动 | / | / |
| 7 | 结合2 | 3 | 800 | 240s | 8 | 0 | 0 | 90s | 15 | 15 | 自动 | / | / |
| 8 | 清洗2 | 4 | 750 | 60s | 8 | 0 | 0 | 60s | 0 | 0 | 自动 | / | / |
| 9 | 清洗3 | 5 | 750 | 60s | 8 | 0 | 0 | 60s | 0 | 0 | 自动 | / | / |
| 10 | 干燥2 | 5 | 750 | 0 | 8 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 自动 | / | / |
| 11 | 洗脱 | 6 | 100 | 240s | 8 | 0 | 0 | 60s | 0 | 50 | 自动 | / | / |
| 12 | 弃磁 | 5 | 750 | 30s | 9 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 自动 | / | / |

6. 约 30 分钟，提取暂停。
7. 取出 96 孔板，在第 3/9 排孔中，加入 500 μ l Buffer MLBN3。
8. 继续执行程序，约 30 分钟提取结束，取出 96 孔板和磁力外套。
9. 把 RNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8 $^{\circ}$ C。