

全血 RNA 提取试剂盒（磁珠法）使用说明书

【预期用途】

全血 RNA 提取试剂盒（磁珠法）用于从全血中分离纯化总 RNA。

【检验原理】

裂解吸附液裂解细胞释放核酸，并与核酸保护剂一起保护 RNA 不被核酸酶水解。裂解吸附液促使核酸与蛋白质分离的同时，促使磁珠表面的硅胶高效吸附释放的核酸。洗涤磁珠，去除蛋白、盐等杂质。在洗脱液低盐高 pH 值的情况下，硅胶释放吸附的核酸，经 DNA 清除剂清除 DNA 后，获得高质量的 RNA。

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-BR02	裂解吸附液 N50	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶	80mL×1 瓶
	核酸保护剂	400μL×1 支	800μL×1 支	1.6mL×1 支
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	磁珠	500μL×1 支	1mL×1 支	2mL×1 支
	洗脱液 A	6mL×1 瓶	12mL×1 瓶	25mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

核酸保护剂和磁珠：常温（10-30℃）运输，2-8℃保存；

其他成分：常温（10-30℃）运输保存。有效期 1 年。

【注意事项】 使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 提前配制 RAW1，RAW1 中乙醇含量低于 60%会影响提取效果。
2. 提前配制 80%乙醇水溶液，乙醇水溶液中乙醇含量低于 80%会影响提取效果。
3. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
4. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品，但操作时最好做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
5. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

抗凝全血。全血抽取后应尽快提取 RNA；如 2 小时后提取，全血需要保存于 2-8℃，保存时间不超过 72 小时。长期使用的样本需-80℃或液氮保存，或者使用保存液按要求保存。溶血和脂血对提取无影响。

【样本用量及得率】

样本体积 (μL)	RNA 得率 (μg)
200μL 全血	0.5-4
200μL 白细胞层	6-20

【自备器械和试剂】

小型高速离心机（最大离心力 $\geq 12,000 \times g$ ）、1.5mL 离心管、2mL 磁力架、无水乙醇和 DNase I（RNase-free, 1U/μL）等。

- **RAW1 配制：**RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：**1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。

【操作步骤】

1. 在 1.5mL 离心管中加入 200 μ L 全血（白细胞层）、8 μ L 核酸保护剂和 400 μ L 裂解吸附液 N50。闭盖，颠倒混匀后，室温（25 $^{\circ}$ C）1,500rpm 振荡 10 分钟。

►振荡时温度低于 20 $^{\circ}$ C 影响提取效率。

►核酸保护剂必须先于裂解吸附液 N50 加入样本。

2. 取出离心管，瞬时离心。

3. 开盖，加入 10 μ L 混匀的磁珠，3,000rpm 振荡 30 秒。

►磁珠使用前必须充分混匀。

4. 取出离心管，瞬时离心。将离心管放于磁力架，吸附磁珠 4 分钟。开盖，吸弃液体，保留磁珠。

►由于各个实验室磁力架磁力不尽相同，吸附磁珠时间可以调整。

5. 加入 600 μ L RAW1，闭盖。从磁力架上取下离心管，充分混匀使磁珠完全分散至洗液中。

6. 将离心管放回磁力架，吸附磁珠至液体清澈（吸附过程中颠倒磁力架数次，使离心管盖上残留的磁珠被充分回收）。开盖，吸弃液体，保留磁珠。

►吸附磁珠务必至液体清澈。

7. 加入 600 μ L 80%乙醇水溶液。从磁力架上取下离心管，充分混匀使磁珠完全分散至洗液中。

8. 将离心管放回磁力架，吸附磁珠至液体清澈（吸附过程中颠倒磁力架数次，使离心管盖上残留的磁珠被充分回收）。开盖，吸弃液体，保留磁珠。

►吸附磁珠务必至液体清澈。

9. 加入 600 μ L 80%乙醇水溶液。从磁力架上取下离心管，用移液器吹打混匀，使磁珠完全分散在 80%乙醇中。转移 80%乙醇中的磁珠至新的 1.5mL 离心管中。

▶必须将 80%乙醇中的磁珠转移至新的 1.5mL 离心管中，否则易导致离子残留过多。

10. 将新的离心管放回磁力架，吸附磁珠至液体清澈。开盖，吸弃液体，保留磁珠。

▶吸附磁珠务必至液体清澈。

11. 将离心管放入离心机，闭盖，6,000rpm 离心 10 秒。将离心管放回 2mL 磁力架，开盖，吸弃残留液体。

12. 将离心管放入金属浴，开盖，50°C烘干 1 分钟。闭盖，取出离心管。

▶样本较多时，取出离心管后必须闭盖，以防磁珠过度干燥，影响洗脱效果。

13. 开盖，在离心管中加入 50 μ L 洗脱液 A，充分吹打混匀磁珠，使磁珠完全分散至洗脱液 A 中，室温 (25°C) 1,500rpm 振荡 1 分钟。

▶洗脱液 A 的量可以根据需要调整。

14. 将离心管放入磁力架上，吸附磁珠至液体清澈。开盖，吸取洗脱液转移至新的离心管中。

▶为了避免洗脱液中微量磁珠残留，洗脱液转移至新的离心管后，可以 12,000rpm 离心 1 分钟，以彻底去除磁珠。

▶此步获得的提取物中含有微量 DNA。

15. **纯净 RNA 的获得：**取 40 μ L 洗脱液，加入 2 μ L RNase-free 的 DNase I (1U/ μ L，自备)，充分混匀后瞬时离心，42°C静置孵育 3 分钟。产物可直接用于 PCR 反应，也可-20°C保存备用。

【说明书编制日期】 2024 年 01 月 25 日

【基本信息】

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司

公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室

网 址：www.wuxi-medtech.com

联系电话：173 1562 0564（微信同号）；

138 6175 7779（微信同号）
