

■ 产品名称

通用型 RNA 提取试剂盒（磁珠法）说明书

■ 货号与规格

货号：RU37100-LM 规格：100 次

■ 产品组分

组分	100 次
裂解液 1	60 mL
结合液 2	120 mL
洗涤液 3	140 mL
洗涤液 4	140 mL
洗脱液 5	10 mL
磁珠悬浮液	7 mL
核酸保护剂 6	8 mL
蛋白酶 K	2 mL
DNase I（可选）	0.5 mL
DNase I Buffer（可选）	7 mL

■ 保存条件：

DNase I 于-20℃保存，干冰运输，DNase I Buffer、蛋白酶 K 和磁珠悬浮液 4℃保存，常温运输，其他试剂常温保存于运输，有效期 12 个月。

■ 样本要求：

1. 适用标本类型：动物组织样本、新鲜全血、血清等。
2. 样本处理与保存：新鲜样本应尽快处理或-80℃冻存，避免反复冻融；
3. 样本运输：应采用泡沫箱加干冰密封运输。
4. DNase I 工作液的配制：每个反应取 5 μl DNase I，加入 70 μl DNase I Buffer，轻柔混匀。

■ 适配仪器：

手动提取

■ 实验流程

组织样本处理：

1. 称取5~20 mg新鲜或-80℃冻存的组织，在研钵中加入液氮充分研磨成粉末状。
2. 将研磨好的粉末迅速转移到预先装有500 μL裂解液1、80 μL核酸保护剂6和20 μL蛋白酶K的离心管中，震荡混匀15~30s，在室温下放置10 min孵育。

注：如使用组织研磨仪钢珠研磨，可在研磨后将500 μL裂解液、80 μL核酸保护剂和20 μL蛋白酶K加入到研磨管中。

3. 孵育后，12,000 rpm (~13, 400×g)离心5 min，转移500 μL上清液的离心管中。

注：建议组织量不要超过20 mg，否则可能导致RNA得率和质量下降。对于富含内源性RNase的样本，如脾脏，建议使用5 mg。

血清样本处理：

1. 在不解冻的情况下，在装有250 μL血清的离心管中加入250 μL裂解液、80 μL核酸保护剂6和20 μL蛋白酶K，震荡混匀15~30 s，在室温下放置10 min孵育。

注：不要在没有试剂的情况下解冻血清样本，这将导致RNA降解

2. 转移500 μL上清液的离心管中。

新鲜全血样本处理：

1. 取新鲜抗凝血，加入6~10倍体积的红细胞裂解液。

注：如果样本是已经处理好的白细胞，请从第6步开始。

2. 在冰上孵育5~10 min。在孵育过程中宜适当偶尔摇动以促进红细胞裂解。

注：对于鼠的血液，裂解5 min即可，对于人的外周血，裂解应延长到10 min。

注：在孵育的过程中溶液将变成半透明状态，表明红细胞裂解。如果必要的话，孵育时间可延长至20 min。

3. 4℃条件下2,100 rpm(~400×g)离心10 min，将上清完全去除。

注：如发现红细胞裂解不完全，可以重复步骤2和步骤3一次。通常极微量的红细胞不会影响后续的一些检测。

4. 向白细胞沉淀中加入2倍红细胞裂解液，重悬细胞。

5. 4℃条件下2,100rpm离心10 min，将上清完全去除。

6. 向白细胞沉淀中加入裂解液1、80 μL核酸保护剂6和20 μL蛋白酶K，裂解液1具体加量按照下表进行，震荡混匀15~30 s，在室温下放置10 min孵育。

注：如果血液不是健康人血，需要根据血液中白细胞的数量来确定所需裂解液1的体积，此时细胞应完全裂解，块状细胞沉淀消失。

裂解液1	全血 (mL)	白细胞数量
300	多至0.5	多至 2×10^6
600	0.5~1.5	2×10^6 至 1×10^7

7. 转移300~500 μL上清液的离心管中。

手动提取流程：

1. 在装有样本处理液的离心管中加入600 μL 结合液2和70 μL 磁珠，在室温下，震荡孵育5 min。
2. 孵育后，将离心管放置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
3. 将离心管从磁力架上取下，加入700 μL 洗涤液3，振荡混匀2 min。
4. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。

注：如需去除 RNA 中的 DNA。可在此步骤后，将离心管置于磁力架上，室温晾干 2-3 min。加入 70 μL DNase I Buffer 5 溶液和 5 μL DNase I，在室温下孵育 10 min，每 3 min 轻微混匀一次。加入 600 μL 结合液 2，振荡或涡旋 5 分钟后转移至磁力架上静置，待溶液澄清后吸弃上清。

注：DNase I 从 4°C 取出后建议置于冰上，使用后迅速放回 4°C。

5. 重复步骤 3 和 4 一次。
6. 将离心管从磁力架上取下，加入 700 μL 洗涤液 4，振荡混匀 2 min。
7. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
8. 重复步骤 6 和 7 一次。
9. 将离心管于磁力架上，室温晾干 2~3 min。

注：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间，以免难以洗脱 DNA。

10. 将离心管从磁力架上取下，加入 60 μL 洗脱液，振荡孵育 5 min。
11. 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，小心将 RNA 溶液转移至一个新离心管中，并于适当条件保存。

■ 注意事项：

1. 结合液 2，洗涤液 3 和洗涤液 4 含有醇类。应避免长时间存放没有盖子的缓冲液。如果醇类蒸发，则不能保证最佳产率。
2. 核酸酶对核酸有降解作用，应保证所有试验材料经高压灭菌或为一次性无核酸酶产品。
3. 磁珠悬浮液在使用前应充分混合，悬浮液不均匀会导致核酸产率低。
4. 在某些情况下，洗脱液中可能会有一些磁珠的痕迹。这些颗粒不会干扰标准 PCR 和大多数下游应用，但可能增加紫外线测量的背景或可能影响实时 PCR，建议使用适当的磁力架执行额外的分离步骤，以去除磁珠。

通用型 RNA 提取试剂盒说明书



仅供研究使用，不适用于临床诊断

基本信息

生产企业名称：蓝景科信河北生物科技有限公司
生产企业住所：河北省保定市徐水区徐水经济开发区法治街 1 号云致科技谷 B10 栋
联系方式：0312-5031216
售后服务单位名称：蓝景科信河北生物科技有限公司
生产地址：河北省保定市徐水区徐水经济开发区法治街 1 号云致科技谷 B10 栋

说明书核准及修改日期

核准日期 2024 年 07 月 8 日