通用型 RNA 提取试剂盒说明书

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：URNM-96 规格：96 次

产品组分

组分	96 次
裂解液 1	57.6 mL
结合液 2	115.2 mL
洗涤液 3	134.4 mL
洗涤液 4	134.4 mL
洗脱液 5	9.6 mL
磁珠悬浮液	6.72 mL
核酸保护剂 6	7.68 mL
蛋白酶 K	1.92 mL
DNase I（可选）	0.48 mL
DNase I Buffer（可选）	6.72 mL
研磨管	96 支/盒

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。

适配仪器：

Chemagic 360 全自动提取仪

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上清至96孔样品板中。

注：组建议织量不要超过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上清至96孔样品板中。

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2×106*
600	*0.5~1.5*	*2×106至1×107*

7. 转移300~500 μL上清至96孔样品板中。

Chemagic 360 自动化流程

预处理：

1. 上机前应先检查缓冲液容器中是否都含有足够的缓冲液。

注意：只有在缓冲液体积不低于规定的最小填充量的情况下，才能进行 96 次实验（本方案中结合液液面需高于 150mL）。

2. 点击应用程序，启动后，等待机器自检。
3. 自检完成后，将管路接入清洗瓶中，选择程序“regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che”，清洗管路。
4. 将管路接入对应的试剂瓶中，选择程序“prime manifolds H96 all 360 V150116.che”，开始预填充管路。

注意：现用方案中，需要预填充管路的为结合液。

上机提取：

1. 板位 1：在磁棒套架上放入磁棒套。
2. 板位 2：在装有上清液的 96 孔板中加入 600 μL 结合液 2。
3. 板位 3：在 96 孔板中加入 700 μL 洗涤液 3。
4. 板位 4：在 96 孔板中加入 5 μL DNase I 和 70 μL DNase I Buffer。
5. 板位 5：在 96 孔板中加入 700 μL 洗涤液 3。
6. 板位 6：在 96 孔板中加入 70 μL 磁珠悬浮液和 700 μL 洗涤液 4。
7. 板位 7：在 96 孔板中加入 700 μL 洗涤液 4。
8. 板位 8：在 96 孔板中加入 60~100 μL 洗脱液 5。
9. 选择程序“chemagic-B RNA Tissue 360 H96 drying prefilling VD240801-2.che”（该程序为组织 RNA 提取程序，血液 RNA 提取程序为 chemagic-B RNA Blood 360 H96 drying prefilling VD240812-2.che），然后选择需要上机的列数，点击[Start] 。
10. 提取完成后，核酸位于洗脱液板内，可用于后续实验或-80℃以下储存。

Chemagic 360 试剂分装方案：

位置	试剂组分
板位 1	磁棒套
板位 2	96 孔深孔板，含有以下试剂：
	500 µL 组织样本裂解后处理液
	600 µL 结合液 2
板位 3	96 孔深孔板，700 µL 洗涤液 3
板位 4	96 孔深孔板，含有以下试剂：
	5 µL DNase I
	70 µL DNase I Buffer
	结合液 2（自动装填）
板位 5	96 孔深孔板，700 µL 洗涤液 3
板位 6	96 孔深孔板，700 µL 洗涤液 4 和 70 µL 磁珠悬浮液
板位 7	96 孔深孔板，700 µL 洗涤液 4
板位 8	96 孔深孔板，含 60~100 µL 洗脱液 5

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. 下机后将管路接入清洗瓶中，选择程序“regular cleaning procedure 96 dispenser 360 V150116.che”，清洗管路。
3. 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。
4. 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。
5. 在某些情况下，洗脱液中可能会有一些磁残的痕迹。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，以去除磁残。
6. 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。

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 2025 年 05 月 15 日