**核酸提取或纯化试剂说明书**

【**产品名称**】 核酸提取或纯化试剂（磁珠法）

【**包装规格**】48T/盒

【**预期用途**】用于核酸的提取、富集、纯化步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。产品组成中不含可与样本特异性结合的抗原、抗体、探针成分。

【**原 理**】本试剂盒适用于从新鲜或冷冻的全血（用柠檬酸盐，EDTA或肝素等抗凝剂处理过的血液样品）样本中提取总RNA ，采用特异性结合核酸（DNA/RNA）的纳米磁珠和独特的缓冲液体系。硅羟基纳米磁珠能高效、专一吸附DNA/RNA，可最大限度去除杂质蛋白等，提取的核酸（DNA/RNA）纯度高，质量稳定，提取的总RNA具有较高的纯度，没有蛋白质和其他杂质污染，可直接用于下游实验。

【**组成成份**】

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| 货号 | | 271602-SK48 |  |
| 试剂盒规格 | | 48T | Kit1储存-20℃ |
| 蛋白酶 K | | 2.5mL |
| DNA 酶 I（2U/μL） | | 250 μL |
| DNA 酶 I 缓冲液 | | 5mL |
| RNA 漂洗液（瓶装） | | 35mL | Kit 2储存15-30℃ |
| Buffer Lysis | 1、2/7、8 孔 | 16T×3板1T×48条 |
| （磁珠 50mg/mL） |
| 异丙醇 |
| Buffer WA | 3、9 孔 |
| RNA 漂洗液（板内预装） | 5、11 孔 |
| DEPC 水 | 6、12 孔 |
| 磁套 | | 6 条 |  |
| 说明书 | | 1 份 |  |

【**储存注意事项**】

1、Kit 1 放置 -20 ℃保存；为避免DNA酶冻融不超过5次，可以解冻后进行分装成小包装；

2、Kit 2 放置室温（15-30 ℃）保存；

3、试剂盒有效期为 12 个月，请在有效期内使用。

【**预防 RNase 污染的注意事项**】

为防止在提取 RNA过程中外源 RNA 酶的污染，必须采取以下措施：

1 、 戴一次性干净手套和口罩操作， 防止皮肤、唾液和实验室用品上存在的 RNase 污染。

2 、 使用无菌无 RNase 的塑料制品和 Tip 头。

3 、 若使用玻璃器皿须经过 0.1%DEPC 水在 37℃下浸泡 12 小时， 然后经过 121℃高压灭 菌 30 分钟，烘干后使用。

4 、 配制相应的试剂必须使用经过 121℃高压灭菌的 0.1%DEPC 水。

【适用设备与仪器】

mypure32核酸提取仪、mini-16全自动核酸提取仪、其他磁棒式提取仪

【**操作方法**】

**实验前准备：**

根据样品数量N，准备DNase I 工作液 = (5μL DNA 酶 I＋95μL DNA 酶 I 缓冲溶液)\*N

**注：① DNase Ⅰ反应混合液尽量现用现配，避免酶活性降低；**

**② DNase I 配制前请短暂离心，将管壁上的液体离心至底部。**

【**实验步骤**】

1. 取出试剂盒中的试剂板，撕开封口膜；吸取血液样品250μL×2 到孔1、2、7、8（其中1、2为一个样品；7、8为一个样品），对应样本孔加入20μL 蛋白酶K。
2. 将准备好的DNase I 工作液加入到对样样品的孔4或孔10中。
3. 运行32核酸提取仪程序如下：

全血RNA 程序

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **步骤** | **孔位** | **自动**  **暂停** | **步骤名称** | **等待时间** | **混合时间** | **吸磁时间** | **容积** | **混合**  **速度** | **加热**  **设置** | **温度** |
| **Min:Sec** | **Min:Sec** | **sec** | **µl** | **℃** |
| 1 | 2 | × | 裂解 | 0:00 | 3:00 | 0 | 900 | 快 | 关闭 | 0 |
| 2 | 1 | × | 裂解 | 0:00 | 3:00 | 0 | 900 | 快 | 关闭 | 0 |
| 3 | 2 | × | 结合 | 0:00 | 5:00 | 60 | 900 | 快 | 关闭 | 0 |
| 4 | 1 | × | 结合 | 0:00 | 4:00 | 60 | 900 | 快 | 关闭 | 0 |
| 5 | 3 | × | 漂洗1 | 0:00 | 3:00 | 60 | 850 | 快 | 关闭 | 0 |
| 6 | 4 | × | 去基因组 | 1:00 | 10:00 | 0 | 100 | 中 | 关闭 | 0 |
| 7 | 4 | √ | 暂停加液 | 0:00 | 3:00 | 60 | 800 | 快 | 关闭 | 0 |
| 8 | 5 | × | 漂洗2 | 0:00 | 2:00 | 60 | 800 | 快 | 关闭 | 0 |
| 9 | 6 | × | 洗脱 | 1:00 | 5:00 | 60 | 70 | 中 | 开启 | 60 |
| 10 | 5 | × | 弃磁 | 0:00 | 0:03 | 0 | 800 | 快+ | 关闭 | 0 |

1. 运行到25min，机器提示暂停，取出试剂板，在孔4、10中加入700μl RNA 漂洗液；
2. 重新放回提取仪中，继续未完成的程序。
3. 程序结束后，将RNA从孔6、12孔中取出置于-80℃或进入下一步实验。

**【RNA纯度和浓度的测定】**

**完整性：**RNA的完整性可以用普通的琼脂糖凝胶检测到电泳（电泳条件：凝胶1.2%；0.5×TBE电阻缓冲液；150V、15min）。细胞rRNA中70-80%电泳后在紫外光下可见非常明显的rRNA条带，大小约为5kb和2kb，分别相当于28S和18SrRNA。

**纯度：**OD260/OD280 是衡量蛋白质污染程度的指标。对于高质量RNA，OD260/OD280值在1.8~2.1之间，比值为2.0是高质量RNA的标记。OD260/OD280值受用于测定的溶液的pH值的影响。对于相同的RNA为例，假设在10mM Tris和pH7.5溶液中测量的OD260/OD280值分别为1.8和2.1，在水溶液中测量的值可能在1.5到1.9之间，但这并不意味着RNA是不纯的。

**浓度：**取一定量的纯化sRNA，用无RNase dd H2O稀释n次，用无RNase dd H2O空白分光光度计，测量稀释剂的OD260和OD280值，按以下公式计算RNA浓度： 最终浓度（ng/μL）=（OD260）×（稀释因子n）×40

【**基本信息**】

生产企业：广州赛百纯生物科技有限公司

地址：广州市黄埔区联浦街16号402房

服务热线：020-84783894

网址：http://www.surbiopure.com