

YALEPIC® 磁珠法血液 RNA 提取试剂盒

YALEPIC® MagEVO Blood RNA Extraction Kit

产品货号: YMR91007

产品保存及运输条件:

常温运输; YALEPIC® Tryzol Reagent 2 ~ 8°C 避光保存。其他组分 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC® MagEVO Blood RNA Extraction Kit 采用具有独特分离作用的纳米磁珠和特制的缓冲液系统, 从新鲜抗凝血 (柠檬酸盐、EDTA、肝素处理过的血液样品) 中提取血液 RNA。试剂盒具有提取效率高、重复性强等优点, 得到的 RNA 纯度高、完整度高、质量稳定可靠, 适用于各种分子生物学应用, 包括 PCR、荧光定量 PCR 等多种实验。

产品组分

序号	产品组分	YMR91007 (96 T)
①	RCLP Buffer (10×)	125 ml
②	YALEPIC® Tryzol Reagent	110 ml
③	YALEPIC® TryCOM Reagent	25 ml
④	GT Buffer	12 ml
⑤	Wash Buffer RA	85 ml
⑥	Wash Buffer RB	24 ml
⑦	Nuclease-free ddH ₂ O	12 ml
⑧	Magbeads MG	2 × 1.5 ml

适用范围

≤ 2.5 ml 新鲜全血、用柠檬酸盐、EDTA 或肝素等抗凝剂处理过的血液样品。

自备试剂及仪器

异丙醇、无水乙醇; 2/15 ml 磁力架; 恒温混匀仪; Nuclease-free 移液器吸头及离心管。
核酸提取仪; 恒温混匀仪或涡旋振荡仪; Nuclease-free 移液器吸头; 1.5 ml Nuclease-free 离心管;
恒温水浴锅。



实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施, 穿戴实验服、手套、口罩等。试剂使用完后立即盖好瓶盖, 避免交叉污染的风险。
2. 使用新鲜样本, 尽量避免反复冻融。否则影响 RNA 提取得率和质量。
3. 本试剂盒不能用于加入抗凝剂的冷冻血液样本 RNA 的提取。
4. **RCLP Buffer (10×)** 需在使用前将溶液用 RNase-free ddH₂O (自备) 进行 10 倍稀释, 请将稀释后 **1×RCLP 工作液** 置于 2 ~ 8°C 保存。
5. 首次使用 **Wash Buffer RB** 前应按照试剂瓶标签加入无水乙醇。
6. **Magbeads MG** 请勿冻存及高速离心, 使用前只需涡旋振荡数秒混匀。

实验流程

● 手动操作 (配磁力架)

1. 向新鲜的抗凝全血样本中, 加入 5 倍体积的 **1× RCLP 工作液**, 轻柔涡旋或颠倒混匀。冰上孵育 12 min, 孵育过程中混匀两次。 (注: 孵育过程中悬液会变成透明, 证明红细胞被裂解, 孵育时间可延长至 15 min)
2. 4°C 2,100 rpm 离心 10 min, 小心吸弃上清。 (注: 尽可能将上清液吸干净, 同时避免枪头吸出管底的细胞沉淀)
3. 向沉淀中加入 1 ml **Tryzol**, 用移液器吹打至少 6 次, 待细胞沉淀重悬后, 将溶液转移至新的 Nuclease-free 离心管 (自备) 中, 将涡旋振荡器调至最大转速后, 涡旋振荡 10 s。
4. 向上述溶液中加入 1/5 体积 **TryCOM** (每使用 1 ml **Tryzol** 加入 0.2 ml **TryCOM**), 盖紧管盖, 剧烈振荡 15 s, 室温放置 2 min。
5. 4°C 12,000 rpm 离心 10 min, 样品分为三层。无色的水相 (上层)、白色中间层以及红色的有机层。小心吸取 **上层水相** (约 650 μl) 至一个新的 Nuclease-free 离心管 (自备) 中。
6. 向离心管加入充分混匀的 100 μl **GT Buffer** 和 350 μl 异丙醇 (自备), 颠倒混匀, 再加入 30 μl **Magbeads MG**, 涡旋振荡 5 s 后混匀后, 将离心管放于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡混匀 5~8 min。 (注: 使用前请涡旋混匀 **Magbeads MG**)
7. 将离心管置于磁力架上静置 1 min, 待磁珠完全吸附后, 吸弃溶液。
8. 取下离心管, 向管中加入 350 μl **Wash Buffer RA**, 旋涡振荡 5 s 后, 放于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 15 s。之后将离心管放于磁力架上静置 1 min, 待磁珠完全吸附后, 缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落, 彻底弃去溶液。重复本步骤 1 次。
9. 取下离心管, 向管中加入 500 μl **Wash Buffer RB** (使用前检查是否加入无水乙醇), 旋涡振荡 5 s 后, 放于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 15 s。之后将离心管放于磁力架上静置 1 min, 待磁珠完全吸附后, 缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落, 彻底弃去溶液。重复

本步骤 1 次。

10. 将离心管重新置于磁力架上，用移液器吸弃管底和管盖上的溶液。保持离心管固定于磁力架上静置 5 ~ 10 min，使乙醇充分挥发。（注：乙醇残留会影响后续的酶促反应，应将残余的乙醇彻底去除。如果离心管侧壁上有液珠，可向离心管中加入 800 μ l 无水乙醇。盖盖后颠倒磁力架充分洗涤，之后彻底弃去无水乙醇）
11. 向离心管从磁力架上取下，向离心管中加入 50 ~ 70 μ l **Nuclease-free ddH₂O**，涡旋振荡混匀后将离心管放于 56°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 5 min。
12. 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，待 Magbeads 完全吸附后，用移液器将洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管中，可置于 -85 ~ -65°C 保存。

● 全自动核酸纯化仪：

（根据选用仪器型号进行试剂分装及程序设定，以下流程以 YALEPIC® Pure 32 通道全自动核酸提取仪为例进行步骤说明）

1. 参考手动提取步骤 1-5 获得**上层水相**。
2. 按下表向 96 深孔板中加入试剂：

列 数	试 剂	体 积
第 1、7 列	GT Buffer	100 μ l
	异丙醇	350 μ l
	上层水相	650 μ l
第 2、8 列	Wash Buffer RA	350 μ l
第 3、9 列	Wash Buffer RA	350 μ l
第 4、10 列	Wash Buffer RB（使用前检查是否加入无水乙醇）	500 μ l
第 5、11 列	Wash Buffer RB（使用前检查是否加入无水乙醇）	500 μ l
	Magbeads MG	30 μ l
第 6、12 列	Nuclease-free ddH ₂ O	50 ~ 70 μ l

3. 将加好样本的深孔板放入核酸提取仪中，装上磁棒套，确认磁棒套安装到位后，即可启动程序 **YMR91007 Blood RNA.ABC**。
4. 程序结束后，取出深孔板，将第 6、12 列中的洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管（自备）中，如不立即进行下游实验，可置于 -85 ~ -65°C 保存。

本产品仅供研究使用，请勿用于临床诊断