



08-07

**Nucleic Acid Purification Kit**  
**MagExtractor-Viral RNA-**

(Code No.: NPK – 400)

使用说明书

研究用

TOYOBO CO., LTD. Life Science Department  
OSAKA JAPAN

## 目 录

1. 前言.....	1
2. 使用前须知.....	1
3. 试剂盒中所包含的物品.....	2
4. 开始抽提之前.....	2
[1] 试剂盒以外所需要的其他物品 .....	2
[2] 试剂的准备 .....	3
[3] 样品的准备 .....	3
[4] 抽提流程.....	4
5. 操作程序.....	5
[1] 使用MFX-2000 抽提Viral RNA.....	5
(1) 操作程序的选择.....	5
(2) 加温block, 冷却(回收) block的温度设定.....	6
(3) 附带专用过滤器的tip的安装 .....	6
(4) 安装专用试管.....	6
(5) 安装试剂.....	6
(6) 安装样品.....	8
(7) 抽提开始.....	9
(8) 样品回收.....	9
[2] 使用手动法抽提Viral RNA.....	9
6. 疑难解答.....	12
[1] 磁珠不能很好的注入 .....	12
[2] 磁珠凝集, 不易分开 .....	12
[3] 回收的RNA溶液有颜色.....	13
[4] RT-PCR不能很好地进行.....	13

### 【 注意 】

本试剂盒中所包含的都是研究用试剂。请不要用于诊断, 临床等场合。在使用本试剂盒的时候, 请严格遵守实验室的基本注意事项, 并注意安全。

## 1. 前言

MagExtractor—Viral RNA利用在Chaotropic（盐）存在的条件下，核酸能吸附在硅胶表面的特性来抽提Viral RNA。本试剂盒通过使用MFX-2000，能够简便地从血清以及血浆<sup>\*1</sup>中自动抽提出Viral RNA。另外，本试剂盒也可用于手动抽提法。在使用MFX-2000 进行抽提时，请阅读MFX-2000 的使用说明书。

### 性能以及特征

- 通过使用 MFX-2000，能够简便地从血清以及血浆中自动抽提出 Viral RNA。
- 不使用苯酚，氯仿等危险溶液。
- 由于无需进行乙醇沉淀或者离心分离，使得在短时间内（大约十五分钟）抽提成为可能。
- 抽提出的 RNA 被回收至经过 DEPC 处理过的蒸馏水中，因此能够直接用于 RT-PCR 等的实验。

## 2. 使用前须知

MagExtractor - Viral RNA 对应以下样品：

样品	样品量
血清、血浆等	~300 $\mu$ l

- 样品的状态，例如被反复冻结溶解等，可能会降低抽提效率。
- 本试剂盒无法分离 RNA 和 DNA。而且，如果在样品中含有 DNA，则可能在所收集的 RNA 中会混有部分 DNA。

---

<sup>\*1</sup> 在MFX-2000 中，需要安装用于MagExtractor- Viral RNA- （Option/Code No.: MFX-601）的软件。并且，由于需要加温功能，故请使用标准式样（加温，简易保冷功能/ Code No.: MFX-102）或者特别式样（加温，电子冷却功能/ Code No.: MFX-103）等机种。

### 3. 试剂盒中所包含的物品

本试剂盒内含有能对 100 份样品进行 RNA 抽提的试剂。请在以下所示的温度下保存。

39ml	溶解·吸附液（含有蛋白质变性剂）	4°C
77ml	洗净液 I（含有蛋白质变性剂）	4°C
100ml	洗净液 II（低浓度缓冲液）	4°C
5ml	溶出液（RNase free 蒸馏水）	4°C
4ml	磁珠	4°C

- 在使用之前，使先使试剂恢复到室温。特别是在 4°C 时溶解·吸附液中可能会析出盐分。此时应先使其恢复到室温后，再进行搅拌以使盐分充分溶解。
- 溶解·吸附液和洗净液 I 中含有高浓度的蛋白质变性剂，使用时请格外小心，并请戴上手套做好防护措施。万一试剂沾在手或者皮肤上，请用清水充分清洗。如若碰到眼睛，请立刻用清水清洗，然后去看医生。
- 请将溶解·吸附液和 2 巯基乙醇溶液（2ME）以 100：1（v/v）的比例混合后使用。混合液请在 4°C 下保存，并在 3 个月之内使用。

### 4. 开始抽提之前

#### [1] 试剂盒以外所需要的其他物品

使用 MFX-2000 的场合：

- 专用试管（Code No: MFX-301）
- 附带专用过滤器的 tip（Code No: MFX-401）
- 安装试剂用试管（50ml用，15ml用，2ml用）\*1

使用手动法的场合：

- 磁性台架（市场有售）
- 试管搅拌器
- heat block（也可以是水浴槽）（65°C）
- 简易台式离心机（能进行大约 3,000~5,000r.p.m 程度的离心）

## [2] 试剂的准备

- 溶解·吸附液先和 2ME 以 100: 1 (v / v) 的比例混合后再使用。当仅制备必要量时，每次混合 700  $\mu$ l 的溶解·吸附液和 7  $\mu$ l 的 2ME。另外，全量制备时，在存放溶解·吸附液的容器里 (77ml) 加入 770  $\mu$ l 的 2ME 进行制备。请将此混合液 (溶解·吸附液 (含有 2ME)) 在 4℃ 下保存 (可以存放 3 个月)。
- 在使用之前，必须将所有试剂回复到室温。

## [3] 样品的准备

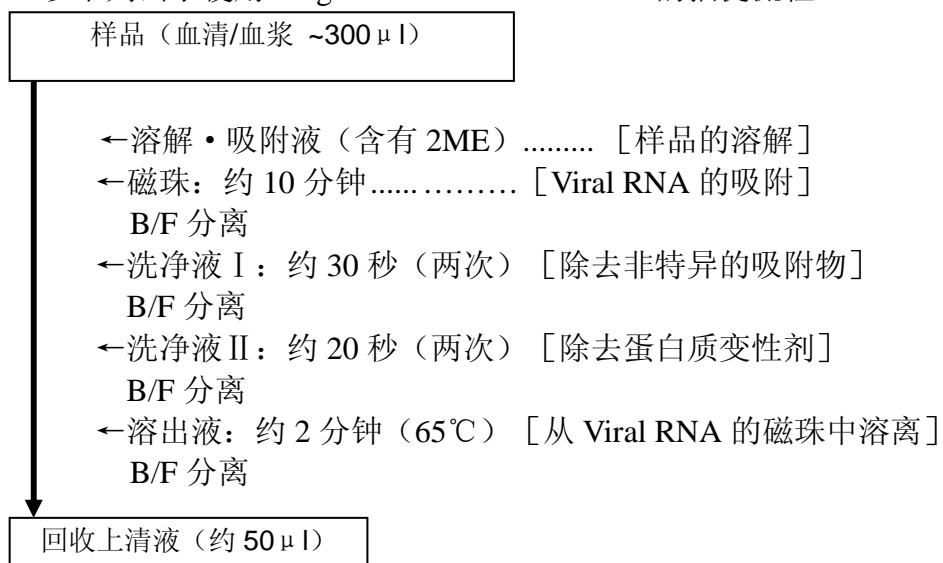
- 如果使用本试剂并通过 MFX-2000 来进行抽提，仪器提供将血清/血浆直接安装在仪器中的操作程序和安装事先用溶解·吸附液 (含有 2ME) 溶解的血清/血浆的操作程序。(有关详细内容，请参照“5- [1] - (1) 选择操作程序”。)
- 如果事先溶解了样品，则在溶解·吸附液 (含有 2ME) 中添加不超过 300  $\mu$ l 的血清/血浆，使得液体总量达到 800  $\mu$ l。然后进行彻底的搅拌并进行瞬时高速离心操作。此时，如果血清/血浆的使用量超过 300  $\mu$ l，则可能会导致抽提效率的下降或者导致操作故障。

---

\*1 安装试剂用试管推荐以下产品。50ml 试管: BLUE MAX 2170 (BECTON DICKINSON 公司生产), 15ml 试管: BLUE MAX Jr (BECTON DICKINSON 公司生产), 2ml 微型试管: 2220, 2200 (INOUP TIC 公司生产), 72.693, 72.694 (Assist 公司生产)。

## [4] 抽提流程

以下列出了使用 MagExtractor—Viral RNA—的抽提流程：



## 5. 操作程序

本试剂盒除了能够使用 MFX-2000 进行自动抽提以外，也可用于进行手动抽提。如果使用手动抽提，则请参照第 11 页的“5-[2]使用手动法抽提 Viral RNA”。

### [1] 使用 MFX-2000 抽提 Viral RNA

在使用 MFX-2000 之前，请务必先阅读 MFX-2000 的使用说明书。如果在 MFX-2000 中使用本试剂盒，则必须在 MFX-2000 中安装用于 MagExtractor- Viral RNA- (Option/Code No.: MFX-601) 的软件。并且，对于所需要的加温功能，可以使用标准式样（加温，简易保冷功能/ Code No.: MFX-102）或者特别式样（加温，电子冷却功能/ Code No.: MFX-103）等机种。

#### (1) 操作程序的选择

在 MFX-2000 中准备了以下 4 种用于抽提 Viral RNA 的操作程序。这些操作程序是根据在 MFX-2000 中是否有溶解·吸附液的自动分装（有或无 2 种选择）以及处理的血清/血浆量（100  $\mu$ l 或 300  $\mu$ l）来设定的。如果选择了没有溶解·吸附液的自动分装的操作程序（41，42），则将事先用溶解吸附液溶解的血清/血浆装入仪器。请根据需要选择其中一个操作程序。

操作程序编号	显示屏上所显示的内容	样品
41	V-RNA: 未分装试剂 100	已溶解的剂血清/血浆（800 $\mu$ l）*
42	V-RNA: 未分装试剂 300	已溶解的剂血清/血浆（800 $\mu$ l）*
43	V-RNA: 已分装试剂 100	血清/血浆（100 $\mu$ l）
44	V-RNA: 已分装试剂 300	血清/血浆（300 $\mu$ l）

\*事先在血清/血浆中添加溶解吸附液，总量不要超过 800  $\mu$ l。此时，如果血清/血浆容量少于 100  $\mu$ l，则选择 41 号操作程序。如果血清/血浆容量在 100  $\mu$ l 到 300  $\mu$ l 之间，则选择 42 号操作程序。

- 一次操作只能够选择一个操作程序。
- 除去试剂分装的时间，每个样品进行抽提所需的时间大约为十五分钟。

**(2) 加温 block, 冷却（回收）block 的温度设定**

将加温 block 以及冷却 block 设定为以下温度：

	加温 block	冷却 block
温度设定	65℃	10℃

- 使用简易保冷 block 的场合，请事先将保冷 block 置于冷藏库或者低温室冷却。简易保冷 block 用于回收液的短时间保冷。
- 温度设定时，请仔细阅读 MFX-2000 的使用说明书。

**(3) 附带专用过滤器的 tip 的安装**

把附带专用过滤器的 tip（Code No: MFX-401）置于 tip 架内。使用的数量请参照下表。

样品数 (N)	所需 tip 数
1~12	N+3
13~24	N+5

- 请务必使用附带专用过滤器的 tip（Code No: MFX-401）。
- 安装超过规定的 tip 数量不会对结果有所影响。
- tip 已用  $\gamma$  射线灭菌。使用时请带好手套。
- 在 tip 架的左下方，纵向列出了 tip 的必要使用量。详细安装位置请阅读 MFX-2000 的使用说明书。

**(4) 安装专用试管**

专用试管（Code No: MFX-301）依据样品数量安装于抽提架 A~E，加温 block 及冷却 block。

- 对于抽提架 A~E 及加温 block，请不要使用专用试管以外的其他试管。否则容易发生故障。
- 对于冷却 block，也可以使用带螺旋帽的 1.5ml 试管（适合用于保存回收液）。
- 详细安装方法，请参考 MFX-2000 的使用说明书。

**(5) 安装试剂**

试剂分别注入指定大小的试管中，安装于试剂架的指定位置。根据样品数的不同，需要的试剂量也会有所不同。请参照第 8 页的表来安装试剂。



试剂名称	安装位置	试管
溶解·吸附液（含有 2ME）* <sup>1</sup>	1	50ml 试管
洗净液 I	2	
洗净液 II	3	
磁珠	7	2ml 微型试管
溶出液	10	15ml 试管

\*<sup>1</sup>只需要操作程序 43 以及 44。

- 注入试剂时，如果剂量较少，可以使用微量移液器，如果剂量较多，则以试管的刻度为标准。
- 请将磁珠事先搅拌充分后放入试剂架。
- 抽提后剩下的试剂可以再次使用，不过需要注意的是，如果长时间放置，可能会由于干燥等原因使得液体的组成发生变化。特别是磁珠长时间放置后，混合液中可能会析出盐分。这种情况下请使用新的试管。
- 使用的试剂剂量请不要多于规定量，否则会引起喷嘴污染以及液体溅出。
- 除了试剂盒的溶出液（DEPC 处理后的蒸馏水），低盐分的中性溶液也可以作为溶出液使用。只是，对于该情况下的抽提效率等，请事先进行实验，以便确认。

## 各试剂的分装量

试剂名	溶解·吸附液	洗净液 I	洗净液 II	磁珠	溶出液
试管规格	50ml	50ml	50ml	2.0ml	15ml
安装位置	1	2	3	7	10

各试管中分装的试剂量 (ml)

样品数	1	5	5	5	.5	0.5		
	2			10			5	
	3						10	
	4		10	15	10	0.8	1	
	5				20			15
	6							20
	7	15		25	15	1.1	1.5	
	8				30			20
	9							30
	10		20	35	25	1.4	2	
	11				40			30
	12							40
	13	35		45	35	1.7		
	14				45			40
	15							45
	16		20	35	40	1.7		
	17				35			
	18				35			
	19	15	30	40	1.4	2		
	20			30				
	21			30				
	22	5	5	5	.5	0.5		
	23			10			5	
	24						10	

以上是根据样品数而定的各试剂分装量标准。由于以上所标的试剂量已经非常充分，所以请根据这些数值将试剂分注到试剂管中并安装。

## (6) 安装样品

将血清/血浆（使用 43 号操作程序时为 100  $\mu$ l，使用 44 号操作程序时为 300  $\mu$ l）或者事先添加了溶解·吸附液（含有 2ME）而进行溶解过的血清/血浆（使用 41，42 号操作程序时，总容量均为 800  $\mu$ l）安装在抽提架的指定位置处。在抽提架的各个孔边有 1~24 的编号，指明了样品的安装位置。

- 对于样品的制备，推荐使用带螺旋帽的 1.5ml 样品试管。请在打开试管盖的状态下放入指定位置。
- 使用普通的 1.5ml 试管时，请用剪刀按图剪断后安放。剪断时请注意安全。

## (7) 抽提开始

根据以下要领，启动机器。

- 确认样品，试管（试剂量），专用试管（抽提架，加温 block，冷却 block），专用 tip 等是否按说明书进行安装。另外，也需确认试管是否已呈垂直状态。
- 确认各试剂架的安装位置，确认 stage 是否完全收回到内部，并请关闭机器前门。
- 在液晶画面输入操作程序号和样品数。
- 确认了屏幕上显示的抽提所需的 tip 数后，输入满足要求的 tip 盒的第一个 tip 的位置。
- 出现“请按下开始键”的画面后，在确认无误后按下“START”键。
- 抽提开始后会在液晶画面上显示“操作中”。

## (8) 样品回收

抽提操作结束后，打开机器前门取出样品。

- 抽提结束后，抽提的 Viral DNA 被回收 block 上的试管回收。另外，液晶画面会再次显示“请按下开始键”字样的画面。
- 确认仪器已完全停止后，从回收 block 上取出试管。请将其保存在冰上直至再次使用为止（如果要长期保存，请在 $-20^{\circ}\text{C}$ 下保存）。
- 回收液量大约为  $55\ \mu\text{l}$ 。
- 回收液中可能会混有少量的磁珠。这种情况下，在进行 RT-PCR 等解析之前，再次进行轻度离心，然后使用上清液。
- 回收液中可能会残留低浓度的表面活性剂，或者产生气泡，但对于 RT-PCR 等的解析，仍可以直接使用。

## [2] 使用手动法抽提 Viral RNA

本试剂盒也能用于手动法抽提 Viral RNA。

- 对于磁珠的分离，建议使用市场有售的 1.5ml 微型试管用磁性台架。但也可通过台式离心机以 3,000r.p.m 5 秒左右离心以达到分离效果。
- 事先将 heat block 的温度设为  $65^{\circ}\text{C}$ 。

[操作流程]

血清/血浆 ~300  $\mu$ l (1)

←700  $\mu$ l 溶解·吸附液 (2)

搅拌 10sec (漩涡混合器搅拌强度: 最大)

←50  $\mu$ l 磁珠溶液 (颠倒搅拌, 使其均匀混合后再添加) (3)

搅拌 10min (漩涡混合器搅拌强度: 最大)

B/F 分离 (4)

←700  $\mu$ l 洗净液 I (5)

搅拌 10sec (漩涡混合器搅拌强度: 最大)

B/F 分离 (6)

←700  $\mu$ l 洗净液 I (7)

搅拌 10sec (漩涡混合器搅拌强度: 最大)

B/F 分离

←900  $\mu$ l 洗净液 II (8)

搅拌 10sec (漩涡混合器搅拌强度: 最大)

B/F 分离 (9)

←900  $\mu$ l 洗净液 II (10)

搅拌 10sec (漩涡混合器搅拌强度: 最大)

B/F 分离

瞬时高速离心后, 再次去除上清部分。(11)

←55  $\mu$ l 溶出液 (12)

搅拌 5sec (使粒子混合)

在 65°C 下放置 2min (13)

搅拌 5sec

瞬时高速离心 (14)

上清 (约 50  $\mu$ l)

(1) 在 1.5ml 微型试管中注入血清或者血浆 (~300  $\mu$ l)。

(2) 添加 700  $\mu$ l 溶解·吸附液, 充分搅拌后进行瞬时高速离心。

- (3) 添加 50  $\mu$ l 的磁珠后，使用试管混合器剧烈搅拌十分钟。
- 请事先将磁珠混合后再使用。
- 
- 将搅拌强度设为最大，在室温下用试管混合器进行搅拌。此时，请确认磁珠是否已充分混合，没有沉淀。
- (4) 将试管置于磁性台架上，使磁珠靠近磁石，多次颠倒混合，使得盖子上的磁珠完全贴近磁石。然后，轻轻震动磁性台架，使得粘在盖子上的溶液摔落下来。用微量移液器吸弃上清部分。
- 置试管于磁性台架上，用微量移液器去除上清液。
  - 如果没有磁性台架，可使用简易台式离心机以 3,000r.p.m 左右的强度离心 5 秒钟。由于离心后粒子可能会变得不易分离，请在搅拌时确认粒子是否已充分混合。
- (5) 在试管中添加 700  $\mu$ l 洗净液 I 后，使用漩涡混合器剧烈混合 10 秒钟。
- 请混合至磁珠均匀分散为止。
- (6) 执行步骤 (4)。
- (7) 重复步骤 (5) (6)。
- (8) 在试管中添加 900  $\mu$ l 洗净液 II 后，使用漩涡混合器剧烈混合 10 秒钟。
- 请混合至磁珠均匀分散为止。
- (9) 执行步骤 (4)。
- (10) 重复步骤 (8) (9)。
- (11) 将试管从磁性台架上取下，轻度离心（瞬时高速离心）后再次小心的去除上清液。
- (12) 添加 55  $\mu$ l 溶出液，搅拌五秒钟使磁珠完全混合。
- (13) 在 65 $^{\circ}$ C 下加热两分钟，再次搅动五秒钟，使得 Viral RNA 从磁珠中溶出。
- (14) 通过磁性台架或者瞬时高速离心后使得磁珠凝集，然后回收含有 Viral RNA 的上清液。请将其在冰上保存直至再次使用为止。（如要长期保存，请在 -20 $^{\circ}$ C 以下保存。）

## 6. 疑难解答

发生错误时请参照以下对策。

### [1] 磁珠不能很好的注入

原因	对策
由于磁珠的沉淀而引起凝固化	请使用漩涡混合器搅拌直至均一混合。并且，请在混合后迅速（10 分钟以内）开始抽提。
由于蒸发而引起的磁珠混合液的成分浓缩，结晶化。	为了避免今后再次发生这种问题，请不要再使用 2ml 试管中残留的磁珠。同样地，如果要保存试剂或者短时间内放置，则请盖紧瓶子或者试管的盖子。

• 其他关于机器操作的疑难解答，在 MFX-2000 的使用说明书中有记载，可以加以参考

### [2] 磁珠凝集，不易分开

原因	对策
样品过剩	如果样品过剩，则可能会使得粒子凝集，从而无法正确的进行抽提。另外，再经过反复的冻结溶解后，即使只有 100 $\mu$ l，有的样品也有可能发生凝集。请再次考虑减少样品量的条件。
使用的试剂量不足	在使用 MFX-2000 进行自动抽提时，如果试剂的使用量过少，抽提将可能无法正常进行。请确认抽提试管内是否还存在试剂。

### [3] 回收的 RNA 溶液有颜色

原因	对策
混入了磁珠	磁珠若是混入回收液中，会使得回收液呈现茶色。 请对回收液进行轻度的离心，使用上清液。

### [4] RT-PCR 不能很好地进行

原因	对策
混入了磁珠	磁珠若是混入到 RT-PCR 反应液中则会阻碍反应的进行。请对回收液进行轻度的离心，使用上清液。
RNA 的分解	使用过多的样品而抽提得到的 RNA 溶液中会残留有 RNase。请再次考虑减少样品量的条件。
混入了 PCR 增幅产物	如果在水及正常血清等作为样品的 Negative Control 中能够看到条带，则可认为是以前增幅的 PCR 产物的污染。请区分进行抽提的区域，制备 PCR 反应液的区域以及进行检测（电泳等）的区域，并考虑在抽提以及制备反应液的区域中不带入 PCR 增幅产物的方法。





[制造 · 销售商]

东洋纺（上海）生物科技有限公司

上海市浦东新区张杨路 188 号汤臣商务中心 C 座 310 室

邮编：200122

交货期限 · 订货相关咨询

Tel:021-5879-4900 Fax:021-5879-4901

E-Mail:sales@bio-toyobo.cn

产品内容 · 技术相关咨询

Tel:021-5879-4142 Fax:021-5879-5259

E-Mail:tech@bio-toyobo.cn

<http://www.bio-toyobo.cn>

代理商资料：