

Serum/Plasma miRNA Kit
血清/血浆 miRNA 提取试剂盒

目录号: **RNE71**

试剂盒组成

Component	RNE71 (50 preps)
Buffer LS	50 ml
Buffer miRW1	25 ml
Buffer RW2 (concentrate)	13 ml (使用前按瓶上标签加入无水乙醇)
RNase-free H ₂ O	10 ml
Spin Columns RA with Collection Tubes	50

保存方法

Buffer LS 常温运输, 4°C避光保存(室温存放 3 个月无影响), 其它组分 RT (15-30°C)。

产品介绍

血清/血浆 miRNA 提取试剂盒是专门针对血清、血浆样本 miRNA 提取而开发的新一代产品。该试剂盒中的裂解液 Buffer LS 经过长时间研发改良, 具有更强的裂解能力和更高的提取灵敏度, 试剂盒中的吸附柱采用特殊的硅基质膜填料, 大大增强了对 RNA、尤其是 small RNA(<200nt)的吸附能力, 提取得到的 miRNA 纯度更好、质量更高, 1 h 内即可完成所有操作, 提取的 miRNA 没有 DNA 和蛋白污染。提取产物可用于 Northern Blot、Dot Blot、PolyA 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆等常规实验。

实验前准备及重要注意事项

1. 需自备无水乙醇和氯仿。
2. 使用无 RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染。
3. 裂解液 LS 中含有刺激性化合物, 操作时要戴乳胶手套, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 要用大量清水或生理盐水冲洗。
4. 第一次使用 Buffer RW2 前应按照试剂瓶标签的说明加入无水乙醇。

操作步骤

1. 样品处理：向 250 μl 样品（血清，血浆）中加入 **750 μl Buffer LS**，剧烈振荡 30 s 充分混匀。
 2. 室温（15-30 $^{\circ}\text{C}$ ）放置 5 min，使得核酸蛋白复合物完全分离。
 3. 加入 **200 μl 氯仿**，盖好管盖，剧烈振荡 15 s，室温放置 3 min。
 4. 4 $^{\circ}\text{C}$ ，12,000 rpm 离心 10 min，样品会分成三层：下层有机相，白色的中间层和无色的上层水相，RNA 存在于水相中。
 5. 小心取上清（精确计算体积）转入到新的离心管中，加入 **1.5 倍上清体积** 的无水乙醇（必须是室温的），涡旋混匀（可能会出现沉淀，不影响后续操作）。将得到的溶液和可能产生的沉淀一起转入（每次小于 700 μl ，多可以分两次）已装入收集管的吸附柱（Spin Columns RA）中，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
 6. 向吸附柱 RA 中加入 **500 μl Buffer miRW1**，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
 7. 向吸附柱 RA 中加入 **600 μl Buffer RW2**（使用前检查是否加入无水乙醇！），12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
 8. 重复步骤 7。
 9. 将吸附柱放回空收集管内，12,000 rpm 离心 2 min。
注意：这一步的目的是去除吸附柱中残余乙醇，乙醇残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。
 10. 将吸附柱 RA 放入新的 RNase-free 离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 **30-50 μl RNase-Free H₂O**，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min，得到 RNA 溶液，-70 $^{\circ}\text{C}$ 保存。
注意：RNase-Free H₂O 体积不应少于 15 μl ，体积过小影响回收效率。如需提高终浓度，可将洗脱的 RNA 溶液再次加入到吸附柱中二次洗脱。
-