

## miRNAclean Kit

**miRNA 纯化回收试剂盒**目录号: **RNE77****试剂盒组成**

Component	RNE77 (50 preps)
Buffer RL	30 ml
Buffer miRW1	25 ml
Buffer RW2 (concentrate)	13 ml
RNase-free H <sub>2</sub> O	10 ml
Spin Columns miRA with Collection Tubes	50

**保存方法**

室温（15-30℃）保存。

**产品介绍**

本试剂盒使用独特吸附柱，在特定高盐条件下 miRNA（包括 siRNA, snRNA 等其他小分子 RNA）与硅胶吸附膜高效、专一地结合，同时最大限度除去蛋白质、无机盐离子和许多有机杂质等，在低盐条件下，miRNA（包括 siRNA, snRNA 等其他小分子 RNA）被洗脱。可处理的 miRNA 样品量可高达 100 µg。

本试剂盒用于从酶反应液（如 DNase 处理、蛋白酶处理、RNA 标记等）中纯化回收 miRNA，也可用于从其它方式提取获得的 miRNA 的纯化。纯化的 miRNA 没有蛋白的污染，所得的 miRNA 可用于 RT-qPCR、Northern blot、Dot blot、cDNA 合成、引物延伸、差异显示等。

**注意事项**

1. 低温时如果 Buffer RL 产生沉淀，请水浴加热使其溶解后使用。
2. **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. 在 RNA 样品中加入 RNase-free H<sub>2</sub>O 补足至 100 μl，加入 **200 μl Buffer RL**，充分混匀。
  2. 加入 **450 μl 无水乙醇**，充分混匀（可能出现沉淀，属于正常现象），立即进行下一步。
  3. 上一步所得溶液和可能有的沉淀一起转入已装入收集管的吸附柱（Spin Columns miRA），12,000 rpm 离心 30 s，弃掉收集管中的废液，将吸附柱重新套回收集管。
  4. 向吸附柱 miRA 中加入 **500 μl Buffer miRW1**，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液。
  5. 向吸附柱 miRA 中加入 **500 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。
  6. 重复步骤 5。
  7. 将吸附柱放回空收集管内，12,000 rpm 离心 2 min，弃收集管。  
**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）。**
  8. 将吸附柱 miRA 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 H<sub>2</sub>O**，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min，得到 RNA 溶液，-70℃ 保存。  
**注意：1）RNase-Free H<sub>2</sub>O 体积不应少于 30 μl，体积过小影响回收效率。2）要提高 RNA 得率，可将得到的 RNA 溶液重新加入至吸附柱中，12,000 rpm 离心 1 min。**
-