

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 可室温稳定保存 12 个月, 为达到最佳效果, 建议收到后置于 2-8°C 避光保存, 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, 大大增强了其对 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。
-