

血浆 miRNA 纯化试剂盒说明书

产品组成

血浆 miRNA 纯化试剂盒	5 次样品	50 次制备
Cat. No.	5006005	5006050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
Carrier RNA	40 μ l	400 μ l
Buffer L8	5 ml	45 ml
Buffer WA (浓缩液)	1 ml	10 ml
Buffer WBR (浓缩液)	1.5 ml	15 ml
RNase-free Water	1.5 ml	2 ml \times 2
说明书	1 份	1 份

产品储存

1. Carrier RNA 请置于 -20°C 储存，Buffer L8 请置于 2~8°C 储存。
2. 其他试剂与物品如果储存于常温 (0~30°C)，可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品贮存于 2~8°C，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从 400 μ l 血浆或血清中分离 miRNA。试剂盒采用柱纯化技术，高效筛选获取高纯度的 small RNA (<200 nt)，适用于 Northern Blot、Dot Blot、polyA 筛选、体外翻译、RNase 保护和分子克隆等分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇、异丙醇
2. 1.5 ml 离心管 (必须选用 RNase-free 的 1.5 ml 离心管)
3. 移液器及吸头 (必须选用含有滤芯的 RNase-free 移液器吸头)
4. 一次性手套及防护用品及纸巾
5. 台式少量离心机 (可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子)
6. 旋涡振荡器

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25°C。
2. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。

操作步骤

1. 在 1.5 ml 离心管中加入 400 μ l 血清或血浆，再加入 800 μ l Buffer L8 和 5 μ l Carrier RNA，盖上管盖，剧烈振荡 15 秒混合均匀，13000 rpm 离心 10 分钟。
 - * 由于血清和血浆中 miRNA 的含量较低，Carrier RNA 的加入，可以有效地提高 miRNA 的回收效率。但是由于最终 Carrier RNA 会与 miRNA 共同分离纯化出来，因此无法用分光光度计估算最终 miRNA 的回收量。Carrier RNA 的存在不会影响荧光定量 PCR 对 miRNA 的定量。
2. 吸取 500 μ l 离心上清液加入到一个洁净的 1.5 ml 离心管中，再加入 800 μ l 异丙醇，温和地翻转离心管 3~5 次混合均匀。
3. 吸取 650 μ l 步骤 2 中的混合液加入到核酸纯化柱（核酸纯化柱置于 2 ml 离心管中）中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 注意不要将溶液沾到纯化柱管口的边缘上，以免后续的洗涤步骤不能洗净纯化柱。
4. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，将步骤 2 中剩余的混合液加入到核酸纯化柱中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。
5. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 500 μ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。
6. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 700 μ l Buffer WBR，盖上管盖，14000 rpm 离心 1 分钟。
 - * 确认在 Buffer WBR 中已经加入无水乙醇。
 - * 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
7. 重复步骤 6 一次。
8. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，14000 rpm 离心 1 分钟。
 - * 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
 - * 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的 RT-PCR 效果。
9. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 RNase-free 1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入 50 μ l RNase-free Water，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。
10. 弃纯化柱，洗脱的 RNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 RNA 储存于 -70°C 以下备用。