

Imagene®

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



CODONX
RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

血清血浆 microRNA 提取试剂盒

目录号 RE141

使用说明书

网站: www.codonx.com
咨询电话: 010-56315162
技术支持 QQ: 3090544158

- 1/适用范围
- 2/试剂盒组成、储存、稳定性
- 3/储存事项
- 4/产品介绍
- 5/产品特点
- 6/注意事项
- 7/操作步骤

1/适用范围：

适用于从动物及人体血浆和血清中纯化包括miRNA的总RNA。

2/试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	50 次(RE141-01)
Lysis buffer	4°C 避光	50 ml
漂洗液 A	室温	12 ml 第一次使用前加入 28ml 无水乙醇
漂洗液 B	室温	10 ml 第一次使用前加入 42ml 无水乙醇
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml
RNase-free 吸附柱 AC 和收集管 CT	室温	50 套

本试剂盒在室温储存 6 个月不影响使用效果。

3/储存事项：

1. 所有的溶液应该是澄清的，如果环境温度低时溶液可能形成沉淀，此时不应该直接使用，可在 37°C 水浴加热几分钟，即可恢复澄清。
2. 不合适的储存于低温（4°C 或者 -20°C）会造成溶液沉淀，影响使用效果，因此运输和储存均在室温下（15°C - 25°C）进行。
3. 漂洗液 B 可能加入乙醇使用几天后出现沉淀晶体，并不影响使用，直接不吸晶体，吸上清使用就可以。
4. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

4/产品介绍：

近年来对 RNA 干扰和调节性小 RNA 的广泛研究迫切需要一种能有效提取 15-30 核苷酸左右大小 RNA（包括 siRNA 和 miRNA）的试剂盒。但是传统的 RNA 提取方法如硅胶膜不能有效吸附回收，酚/胍抽提和异丙醇或者乙醇沉淀并不能有效沉淀回收微小分子 RNA，对于血清血浆样本更是由于其自身特点更难提取。本试剂盒采用独特的裂解液迅速直接裂解血清血浆 RNA 酶，强烈有机抽提去除蛋白和 DNA，RNA 包括微

小分子 RNA 在高浓度乙醇下吸附于离心柱内特殊硅基质膜，再通过一系列特殊漂洗液快速的漂洗—离心的步骤，漂洗液将细胞代谢物，蛋白等杂质进一步去除，最后低盐的洗脱液将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。

5/产品特点：

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用世界著名公司特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。
2. 不需要异丙醇或者乙醇沉淀等容易丧失微小分子 RNA 的步骤。
3. 特殊的裂解液配方，可以处理更多的血清/血浆样品。
4. 多次柱漂洗确保高纯度，可用于 RNAi，RT-PCR，Northern-blot 和各种实验。

6/注意事项

1. **第一次使用前请先在漂洗液 A 瓶和漂洗液 B 瓶中加入指定量乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！**
2. **除说明外，所有的离心步骤均在室温完成**，使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机。
3. 需要自备乙醇，氯仿。
4. **Lysis buffer 和漂洗液 A 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，要用大量清水或者生理盐水冲洗。**
5. RNA 纯度及浓度检测：
一般情况下通过测量 OD₂₆₀ 值可以知道 RNA 产量，测量 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值可以是衡量蛋白质污染程度的指标之一，但是由于血清/血浆的 RNA 含量特别低，已经低于分光光度计测量的下限，无法测量准确，因此一般无法通过测量 OD 值或者比值的方法来判断纯度或者浓度，只能通过下游做荧光定量 RT-PCR 来判断产量。同时无细胞的血清/血浆中的 RNA 主要是小于 100 nt 的小 RNA，因此传统的电泳检测 RNA 完整性并不适用于血清/血浆 RNA。

7/操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

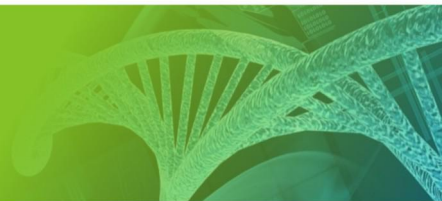
⇒ **提示：**第一次使用前请先在漂洗液 A 瓶和漂洗液 B 瓶中加入指定量乙醇！

1. 每250µl样品(血清, 血浆)加入750µl Lysis buffer, 涡旋振荡或者用加样枪吹打液体样品几次混匀帮助裂解。

对于含有高污染物样品如高蛋白高血脂样品, 可以适当减少处理量, 不足的体积, 可以用去 RNase-free H₂O 补足。Lysis buffer 和液体样品的终体积比总是 3: 1。例如 200µl 样品+50µl RNase-free H₂O+750µl Lysis buffer。

2. 将样品剧烈震荡混匀, 在15 -30°C条件下孵育5分钟。
3. 每750µl Lysis buffer加200µl 氯仿, 剧烈振荡15秒并室温下放置2分钟。
4. 于4°C 12,000rpm 离心10分钟, 样品会分成三层: 下层有机相, 中间层和上层无色的水相, RNA存在于水相中。水相层的容量大约为所加Lysis buffer体积的70%。
5. 小心取上清(精确计算体积)转入到新的离心管, 加入1.5倍体积的无水乙醇(必须是室温的), 涡旋混匀。此时可能出现沉淀,但是不影响提取过程,立即吹打混匀, 不要离心, 立刻接下一步。
6. 将混合物(每次小于 700µl,多可以分两次加入)加入一个吸附柱 AC 中,(吸附柱 AC 放入收集管 CT 中) 12,000 rpm 离心 30-60 秒, 弃掉废液。
7. 加 700µl 漂洗液 A (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
8. 加入 500µl 漂洗液 B (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。加入 500µl 漂洗液 B, 重复一遍。
9. 将吸附柱 AC 放回空收集管 CT 中, 13,000 rpm 离心 2 分钟, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 取出吸附柱 AC, 放入一个 RNase free 离心管中, 根据预期 RNA 产量在吸附膜的中间部位加 30-40µl RNase free water (事先在 100°C 水浴中预热效果更好), 室温放置 1 分钟, 12,000 rpm 离心 1 分钟。

洗脱液加回到吸附柱重复洗脱一遍可以提高产量和浓度(如果需要 RNA 浓度高)。如果需要提高浓度, 洗脱体积最小可以低至 15µl, 但是使用小体积洗脱会降低一些产量。



CodonX(China) Biotechnology Co., Ltd

Yizhuang Biomedical Park
Building 6, No.88 6th Kechuang St. Economic-Technological Development Area, Beijing, China
Tel: 010-56315162 www.codonx.com