

版本号: DP160526

miRcute Serum/plasma miRNA isolation kit

miRcute血清/血浆miRNA

提取分离试剂盒

(离心板型)

目录号: DP503

产品内容

产品组成	DP503 (50 preps)
裂解液MZA (Buffer MZA)	50 ml
漂洗液RW (Buffer RW)	12 ml
去蛋白液MRD (Buffer MRD)	24 ml
RNase-Free ddH ₂ O	15 ml
RNase-Free吸附柱miRelute (含2 ml收集管) (RNase-Free Spin Columns miRelute in a 2 ml Collection Tube)	50套
RNase-Free离心管(1.5 ml) (RNase-Free Centrifuge Tubes 1.5 ml)	50个

储存条件

裂解液应在2-8℃ 避光保存, 其它溶液和吸附柱室温(15-25℃)保存。

产品简介

miRcute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MZA经过长时间研发改良，具有一般裂解液不具有的裂解能力和提取灵敏度，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 (<200 nt) 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。

注意事项

预防RNase污染，应注意以下几方面

1. 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致RNase污染。
 2. 使用无RNase的塑料制品和枪头避免交叉污染。
 3. RNA在裂解液中不会被RNase降解。但提取后继续处理过程中应使用不含RNase的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在150℃烘烤4 h，塑料器皿可在0.5 M NaOH中浸泡10 min，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除RNase。
 4. 配制溶液应使用无RNase的水(将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC至终浓度0.1% (v/v)，放置过夜，高压灭菌)。
-

操作步骤

第一次使用前应在漂洗液RW和去蛋白液MRD中加入无水乙醇，加入量请参见瓶上标签。

1. 样品处理：每200 μ l血清或血浆中加入900 μ l裂解液MZA，振荡器振荡混匀30 sec至完全匀浆，颠倒混匀。如需使用检测外参 (CR100-01)，请于完全匀浆之后、颠倒混匀之前加入(1 μ M浓度，加入1 μ l)。

注意：提取样本量建议不要大于200 μ l，否则会导致RNA产率以及纯度偏低。裂解液的量严格按照说明书加入，如果加入量少会使界相分离不彻底，最终也会导致低的产率与纯度。

2. 室温放置5 min，使得核酸蛋白复合物完全分离。
3. 加入200 μ l氯仿，盖好管盖，剧烈振荡15 sec，室温放置5 min。
4. 12,000 rpm (~13,400 \times g)，4 $^{\circ}$ C，离心15 min，样品会分成三层：黄色的有机相，白色的中间层和无色的水相，RNA主要在水相中，把水相转移到新管中，进行下一步操作。
5. 量取转移液的体积，缓慢加入转移液2倍体积的无水乙醇(如：500 μ l的转移液加1 ml无水乙醇)，混匀(此时可能会出现沉淀)。将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱miRelute，室温放置2 min，室温 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，离心后弃掉流出液，保留吸附柱miRelute。
6. 向吸附柱miRelute中加入700 μ l去蛋白液MRD (请先检查是否已加入乙醇)，室温静置2 min，室温 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，弃废液。
7. 向吸附柱miRelute中加入500 μ l漂洗液RW (请先检查是否已加入乙醇)，室温静置2 min，室温 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，弃废液。
8. 重复步骤7一次。
9. 室温 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min，弃收集管。

注意：此步骤目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，离心后将吸附柱miRelute在室温放置片刻，或置于超净工作台上通风片刻，以充分晾干。如果有漂洗液残留，可能会影响后续的RT等实验操作。

10. 将吸附柱miRelute转入一个新的RNase-Free 1.5 ml离心管中，向吸附膜中心位置加15-30 μ l RNase-Free ddH₂O，室温放置2 min，室温 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于15 μ l，体积过小影响回收效率。且RNA应保存在-70 $^{\circ}$ C，以防降解。如果想提高RNA得率，可重复步骤10一次。