

**MicroRNA Extraction and Purification Kit (Spin Column)****MicroRNA 提取纯化试剂盒 (离心柱)****说明书****【产品简介】**

本试剂盒的裂解抽提试剂采用独特的配方和添加剂,能高效的裂解细胞和组织,有效的去除大片段 RNA,富集纯化 200bp 以下的小 RNA。另外本试剂还可以有效地抑制各种外源性和内源性的核酸酶,同时结合特制的纯化柱,能最大限度的保持核酸的完整性、高得率以及纯度。

【试剂盒组成】

试剂盒组成	LN-0115A (50 次)	LN-0115B (100 次)
裂解液 LB	60ml	120ml
漂洗液 WB1	15 ml	30 ml
漂洗液 WB2	12ml	24ml
miRNA 离心纯化柱	50 个	100 个
RNA 分离柱	50 个	100 个
洗脱液 EB	2x2ml	4x2ml
说明书	1 份	1 份

注意: 第一次使用前, 请按照标签提示向漂洗液 WB1, WB2 中加入适量无水乙醇。

【试剂运输及储存条件】

试剂运输可在常温环境下进行。储存时,可保存在室温。裂解液LB存放于4℃。本试剂盒有效期为12个月,请在有效期内使用。

【操作步骤】

1. A: 从组织中提取纯化 MicroRNA, 在冷冻的研钵中切下一小块深层冷冻的组织样品, 并用电子天平称量。然后立即将该组织转移至加有 1ml 裂解液 LB 的无 RNA 酶的离心管中, 用电动匀浆机在冰浴中匀浆组织约 15s 直到看不见明显的组织块, 之后操作见第 2 步。

注意: 组织样品应储存于液氮或低温冰箱(-80℃)。该实验流程只适用于在小于 30mg 的组织样品中抽提 MicroRNA, 过多组织的用量可能会减少核酸得率。

B: 从细胞样品中提取纯化 MicroRNA, 先把培养皿或培养瓶置于冰上, 弃尽培液, 用预冷的 1xPBS 洗涤细胞两次。然后加入 1ml 裂解液 LB, 用细胞刮刮下所有细胞, 将裂解物转移至无 RNA 酶的 1.5ml 离心管中, 充分振荡 30s, 之后操作见第 2 步。

注意: 1. 试剂盒中不提供 1xPBS。2. 重悬细胞还可以先将细胞 2000xg, 离心 3min, 用 1xPBS 洗涤后再加入 1ml 裂解液 LB。3. 该实验流程只适用于从少于 1x10⁶ 细胞中提取 RNA, 过多细胞用量可能会减少核酸得率 (建议细胞标本在 10⁵ 与 10⁶ 之间)。

C: 从血清、血浆、细胞培养液及体液等样品中提取少量 miRNA, 1ml 裂解液 LB 与 200ul 液体标本混合, 之后操作见第 2 步。

2. 把裂解物于室温静置2min后, 加入0.2ml三氯甲烷, 小心盖上管盖, 剧烈摇动15s。

注意: 请不要漩涡震荡。

3. 将离心管再次置于室温2min, 然后4℃, 12,000 x g离心15min。

4. 将450μl上清水相转移至另一新的无RNA酶离心管中, 并加入等体积的60%乙醇, 漩涡振荡混匀5s。

注意: 上清体积吸取450μl为宜, 吸取过多上清会造成基因组污染。

5. 立即吸取500μl样品以及有可能形成的沉淀, 加入带有2ml收集管的RNA分离柱。轻盖盖子, 10,000 x g, 室温



离心15s, 收集流穿液于另一干净的1.5ml离心管中。

6. 将剩余的样品转移至RNA分离柱, 收集流穿液于另一干净的1.5ml离心管中, 重复第6步。
7. 向收集的两管流穿液中分别加入1.5倍体积的无水乙醇, 漩涡振荡混匀后立即吸取700 μ l样品以及有可能形成的沉淀, 加入带有2ml收集管的miRNA离心纯化柱。轻盖盖子, 10,000 x g, 室温离心15s, 弃尽废液。
8. 往miRNA离心纯化柱中加入700 μ l漂洗液WB1, 轻盖盖子, 10,000 x g, 室温离心15s, 弃尽废液。
注意: 第一次使用前请确认是否已经往漂洗液WB1中加入44ml无水乙醇。
9. 往miRNA离心纯化柱中加入500 μ l漂洗液WB2, 轻盖盖子, 10,000 x g, 室温离心15s, 弃尽废液, 重复一次, 最后一次洗涤后, 10,000 x g离心空柱2min干燥硅胶膜。
注意: 第一次使用前请确认是否已经往漂洗液WB2加入96ml无水乙醇。完全去除洗液对最后溶解是非常重要的, 洗液的残留会影响最终的洗脱。
10. 将miRNA离心纯化柱转移至一新的无RNA酶的1.5ml离心管中, 往硅胶膜中央滴加50 μ l洗脱液EB, 轻盖管盖, 室温静置2-5min, 10,000 x g 离心1min洗脱RNA。
注意: 洗脱体积不宜小于30 μ l, 否则会影响洗脱效果。
11. 把洗脱液滴加回硅胶膜重复第10步洗脱。
12. 如需后续操作, 请始终将溶解的RNA至于冰上, 保存请置于-80 $^{\circ}$ C。

注: 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。