

**Blood (Serum/Plasma) MicroRNA Extraction and Purification Kit (Spin Column)****血液(血清/血浆)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-0118A (50 次)	LN-0118B (100 次)
裂解液 LB	50 ml	100ml
吸附液 BD	7ml	14ml
助沉剂 PA	200 $\mu$ l	400 $\mu$ l
漂洗液 WB1	15 ml	30 ml
漂洗液 WB2	6 ml	12 ml
离心纯化柱	50 个	100 个
洗脱液 EB	2x2 ml	4x2 ml
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 $^{\circ}$ C。本试剂盒有效期为12个月,请在有效期内使用。

**【操作步骤】**

1. 从血清、血浆、细胞培养液及体液等样品中提取少量 miRNA,按照标本 5 倍体积加入裂解液 LB,将裂解混合物混合均匀。

**注意:** 建议使用标本用量为 200 $\mu$ l,过多的样品可能会导致抽提产量的降低。

血清/血浆标本量/ $\mu$ l	步骤 1 裂解液 LB/ $\mu$ l
$\leq 50$	250
100	500
200	1000

2. 往裂解物中加入1/10体积的吸附液BD和3.5 $\mu$ l助沉剂PA,并加入1.5倍体积的无水乙醇,用移液器吹打数次混匀,室温静置30min。

**注意:** 由于实验室常用1.5ml离心管,建议裂解物可分成两管,然后分别向其内加入1.5倍体积无水乙醇,1/10体积的吸附液BD和3.5 $\mu$ l 助沉剂PA。

**例:** 如每管含有裂解物500 $\mu$ l,则加入50 $\mu$ l 吸附液BD, 3.5 $\mu$ l 助沉剂PA和750 $\mu$ l无水乙醇。

3. 立即吸取700 $\mu$ l样品以及有可能形成的沉淀,加入带有2ml收集管的离心纯化柱。轻盖盖子,10,000 x g,室温(15-25 $^{\circ}$ C)离心15s。
4. 将剩余的样品转移至离心纯化柱,重复第3步。
5. 往离心纯化柱中加入600 $\mu$ l漂洗液WB1,轻盖盖子,10,000 x g,室温离心1min,弃尽废液。

**注意:** 第一次使用前请按照标签提示往WB1中加入适量无水乙醇。



6. 往离心纯化柱中加入500 $\mu$ l漂洗液WB2, 轻盖盖子, 10,000 x g, 室温离心1min, 弃尽废液。  
**注意: 第一次使用前请按照标签提示往WB2中加入适量无水乙醇。**
7. 将往离心纯化柱中加入500 $\mu$ l 80%无水乙醇, 轻盖盖子, 10,000 x g, 室温离心1 min, 弃尽废液。  
**注意: 80%无水乙醇配制使用去核酸酶水即200  $\mu$ l去核酸酶水加800  $\mu$ l无水乙醇。**
8. 10,000 x g离心空柱1min, 干燥硅胶膜。  
**注意: 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。**
9. 将离心柱转移至新的无核酸酶的1.5ml离心管中, 往硅胶膜中央滴加40 $\mu$ l洗脱液EB, 轻盖管盖, 室温静置5min, 11,000xg离心1min洗脱RNA。  
**注意: 1. 转移离心柱时注意不要触及流穿废液, 避免污染离心柱。  
2. 洗脱体积不宜小于20 $\mu$ l, 否则会影响洗脱效果。  
3. 40 $\mu$ l洗脱液EB 离心回收后, 损失的样品体积约为5 $\mu$ l, 回收液体积约35 $\mu$ l 。**
10. (可选步骤) 把洗脱液滴加回硅胶膜重复第9步洗脱以提高得率。
11. 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。