

Superbrilliant[®] 全血 miRNA 提取试剂盒
Superbrilliant[®] Blood miRNA Extraction Kit

Cat. No.: ZS-M15006

组分:

货号	名称	ZS-M15006S (25T)	ZS-M15006M (50T)	ZS-M15006L (250T)
102018	miRNA 裂解液 A	7.5 ml	15 ml	75ml
102019	miRNA 吸附液 B	10ml	20ml	100ml
101014	miRNA 吸附柱	25 套	50 套	250 套
102020	RnaseFree TE Buffer	2.5ml	5ml	25ml

储存: 室温可保存 2 年。

简介: 使用该试剂盒提取的小 RNA (Small RNA) 中, 长度在 15~200nt 范围的 RNA 在 95% 以上, 基本不含有大 RNA 和 DNA。全血 miRNA 提取试剂盒是目前世界上提取小 RNA (<200nt) 操作步骤最简单、重复性最好、小 RNA 产率最高的方法。使用该试剂通过一步上柱即可获得高纯度 miRNA, 可在 45min 内完成小 RNA 的提取。该试剂盒适用于冻存和新鲜的抗凝全血样本 (注意该试剂盒不适用于血清和血浆)。

使用防护建议: miRNA 裂解液 A 溶液中含有胍盐, 其具有强烈的腐蚀性, 试验时请务必佩戴防护眼镜、手套、口罩等防护措施, 如有皮肤接触请立即用大量清水冲洗, 再另行就医。

自备试剂: 异丙醇、乙醇、75% 异丙醇

操作方法:

- (1) 向 1.5ml EP 管中加入 300μl miRNA 裂解液 A。将 150μl 抗凝全血加入到上述 300μl miRNA 裂解液 A 中, 立即手腕用力震荡混合均匀。室温静置 5min 以充分裂解细胞。
- (2) 向上述裂解完毕的裂解液中加入 250μl miRNA 吸附液 B, 上下颠倒混合均匀。13,000rpm 离心 5min, 吸取 550μl 上清液, 转移到新的 1.5ml EP 管中。
- (3) 向上述溶液中加入 200μl 无水乙醇, 手腕用力震荡数次, 室温放置 5min。
- (4) 13,000rpm 离心 10min, 转移 700μl 上清液到新的 1.5ml EP 管中。

- (5)向上述溶液中加入 300 μ l 异丙醇，手腕用力上下颠倒数次。
- (6)分两次将上述溶液倒入到 miRNA 吸附柱中，13,000rpm 离心 1min，倒掉过滤液。
- (7)向吸附柱中加入 700 μ l 75% 异丙醇洗涤一次，13,000rpm 离心 1min，倒掉过滤液。
- (8)向吸附柱中加入 500 μ l 无水乙醇洗涤一次，13,000rpm 离心 1min，倒掉过滤液。
- (9)吸附柱 13,000rpm 空离心 2min，去掉残留的乙醇。
- (10)将吸附柱放入到新 1.5ml EP 管中，室温放置 2min，使残留乙醇挥发。在吸附柱滤芯上加入 30 μ l RnaseFree TE Buffer，室温静置 2min，13,000rpm 离心 2min，洗脱产物即为提取的 miRNA。（通常取 3~5 μ l 该产物，即可使用 Superbrilliant™ miRNA 反转录试剂盒（TaqMan 法）进行反转录反应，货号：ZS-M15004）。

常见问题汇总:

- (1) 本方法提取的小 RNA, 95% 以上为小 RNA (<200nt), 有时会残留一些 >200nt 的 RNA, 通常残留的 >200nt RNA 不影响后续试验操作。
- (2) 本试剂盒提取的小 RNA 由于不含 mRNA 等大分子量的 RNA, 因此更适合做后续反转录试验, 从而进行定量试验。
- (3) 使用本试剂盒提取的 microRNA 浓度通常在 50ng/μl 左右, 取 5~10μl 即可用于电泳检测。取 3~5μl 即可用于 Superbrilliant™ miRNA 反转录试剂盒 (TaqMan 法) 进行反转录反应 (货号: ZS-M15004), 通常使用优化的 Superbrilliant™ TaqMan miRNA 定量 PCR 试剂盒 (货号: ZS-M15002) 配合 Supersmart™ TaqMan miRNA 定量 PCR 探针 (货号: ZS-MT-XXXXX) 使用。