Superbrilliant[®] 血清血浆 miRNA 提取试剂盒**Superbrilliant[®] Serum/Plasma miRNA Extraction Kit****Cat. No.: ZS-M15007**

组分:

货号	名称	ZS-M15007M (25T)	ZS-M15007M (50T)	ZS-M15007L (250T)
102021	血清血浆 miRNA 裂解液	20 ml	40 ml	200ml
101014	miRNA 吸附柱	25 套	50 套	250 套
103006	RNase Free H ₂ O	1.25ml	1.25ml x2	12.5ml

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。血清血浆 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 产率最高的方法之一。使用该试剂通过一步上柱即可获得高纯度 miRNA, 可在 12min 内完成小 RNA 的提取。该试剂盒提取产物可直接用于后续的反转录、Northern 杂交、测序等应用。

使用防护建议: 血清血浆 miRNA 裂解液中含有胍盐, 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、EP 管

操作方法:

- (1) 向 1.5ml EP 管中加入 800 μ l 血清血浆 miRNA 裂解液。将 300 μ l 血清或血浆样本加入到上述 800 μ l 血清血浆 miRNA 裂解液中, 用腕力混匀 30s, 室温放置 5min。
- (2) 13,000rpm 离心 5min, 将上清约 1ml 倒入到新的 2ml EP 管中。加入 1ml 异丙醇, 上下颠倒混合均匀。
- (3) 将上述溶液分三次倒入到吸附柱中 (每次约 700 μ l), 13,000rpm 离心 15s, 倒掉过柱液。

- (4) 向吸附柱中加入 700 μ l 75%异丙醇洗涤一次, 13,000rpm 离心 15s, 倒掉过滤液。
- (5) 向吸附柱中加入 500 μ l 无水乙醇洗涤一次, 13,000rpm 离心 15s, 倒掉过滤液。
- (6) 吸附柱 13,000rpm 空离心 2min, 去掉残留的乙醇。
- (7) 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 RNase Free H₂O, 室温静置 2min, 13,000rpm 离心 2min, 洗脱产物即为提取的 miRNA。通常取 10 μ l 该产物, 即可使用 Superbrilliant™ miRNA 反转录试剂盒 (TaqMan 法适用于血清血浆样本) 进行反转录反应 (货号: ZS-M15003)。

常见问题汇总:

- (1) 由于血清血浆中 miRNA 的含量低, 为了获得更可靠的 实验数据, 建议使用特异性和灵敏度更好的 TaqMan 探针法进行 miRNA 的下游检测。本试剂盒提取的 miRNA 并不限于其它检测方法和用途, 包括 SYBR Green 法检测、二代测序、芯片等检测领域。
- (2) 由于血清血浆中的 miRNA 含量极低, 提取的 miRNA 浓度通常在 10ng/ μ l 以下, 因此难以用常规的 NanoDrop 测量浓度, 建议直接使用 10 μ l 进行下游反转录。由于本试剂盒提取的是小 RNA, 该浓度下的 miRNA Copy 数足以进行下游检测。
- (3) Superbrilliant™ miRNA 反转录试剂盒 (TaqMan 法适用于血清血浆样本) (货号: ZS-M15003) 为血清血浆专用, 不可用于细胞和组织的 miRNA 检测实验。

使用 Superbrilliant™ miRNA 反转录试剂盒(TaqMan 法适用于血清血浆样本)(货号: ZS-M15003) 获得的反转录产物仅可使用本公司优化的 Superbrilliant™ TaqMan miRNA 定量 PCR 预混液 (货号: ZS-M15002)。在使用 ZS-M15003 反转录条件下, 然后 Superbrilliant™ TaqMan miRNA 定量 PCR 预混液 (货号: ZS-M15002) 配合应用 Superbrilliant™ TaqMan hsa-miR-16 定量 PCR 探针(货号: ZS-MT-hsa-miR-16)检测内源 hsa-miR-16, Ct 值通常在 24 左右。

(4)外源性内参可单独订购 cel-miR-39 标准品 (货号: ZS-MT-cel-miR-39-STANDARD), 每个样品每次提取 cel-miR-39 的使用量为 50fmol。