

miRNA 提取试剂盒说明书

组份 \ 编号	ZD-TG-A1-50
mini 离心柱	50 个/包×1
微量离心柱	50 个/包×1
1.5ml 离心管	50 个/包×1
溶液 TR	55ml/瓶×1
溶液 W1A	9ml/瓶×1
溶液 RW2	6ml/瓶×1
RNase-free 水	5ml/瓶×1
说明书	1 份

产品介绍

Takegene[®] miRNA 试剂盒用于组织、细胞及血样中 miRNA 纯化。它的特点是操作简单、快速, 并且获得的 miRNA 纯度很高, 不含 DNA 和蛋白质污染。由于采用微量离心柱, 最终获得的 miRNA 被浓缩, 使得检测灵敏度大为提高。

存储和稳定性

- 溶液 TR 2~8℃ 避光保存。其余组分储存在环境温度 -40℃~40℃, 相对湿度不大于 75%, 无腐蚀性气体的避光处。
- 保质期: 12 个月。

使用前说明

- 阅读说明书, 备好试剂和仪器。
需自备的仪器、耗材及试剂: 台式小型离心机、合适的无 RNase 离心管、三氯甲烷、无水乙醇。
- 使用并经常更换一次性手套。使用无 RNase 枪头避免污染。
- 首次使用前, 分别向溶液 W1A 和 RW2 瓶中按标签要求加入无水乙醇 (自备), 摇匀后标记备用。
- 注意! 步骤“7”与步骤“9”中用的为不同规格离心柱, 勿混用。
- 注意! 溶液 TR 含有苯酚。在与皮肤接触及吞咽有毒, 可导致烧伤。与皮肤接触后, 应立即用洗涤剂和大量水冲洗。如感到身体不适, 及时就医。
- 盒中的 1.5ml 离心管专用于收集最后一步中的 miRNA 洗脱液。

操作步骤

1. 样本裂解:
 - 1.1 全血、血清和血浆: 取 200 μ l 样品于离心管(自备)中, 加入等体积溶液 TR, 剧烈振摇混匀 30sec.
 - 1.2 组织: 将样品在液氮中磨碎。每 30~50mg 动物组织或者 100mg 植物组织加入 1ml 溶液 TR, 用匀浆仪做匀浆处理。
注意! 组织样品体积不应超过溶液 TR 体积的十分之一。
 - 1.3 细胞悬液(少于 1×10^7 个细胞): 2100rpm (400 \times g) 离心 5min。弃上清, 向细胞中加入 1ml 溶液TR, 漩涡混匀或用移液器吸打混匀。
 - 1.4 贴壁培养细胞(少于 1×10^7 个细胞): 直接在培养板中加入溶液TR裂解细胞, 每 10cm²面积加 1ml裂解液。移液器吸打混匀。
2. 将匀浆或混匀后样品室温放置5min。
3. (可选)当样品为血液或含有较多蛋白、脂肪、多糖和植物筋节时使用: 12000rpm (13000 \times g) 离心10min。取上清于新的离心管(自备)中。
4. 加入200 μ l三氯甲烷。剧烈振摇混匀15sec, 室温放置2~3min。
5. 4 $^{\circ}$ C 12000rpm (13000 \times g) 离心15min。将上层水相(白色中间层上的透明部分, 注意不要吸入中间层!)移入离心管(自备)中。
6. 全血、血清或血浆样本按步骤“6a”进行, 其他样本按步骤“6b”进行。
 - 6a: 向管中添加移入水相1/3体积的无水乙醇, 充分混匀。至步骤“7”。
 - 6b: 向管中添加移入水相0.4倍体积的无水乙醇, 充分混匀。至步骤“7”。
7. 将不多于700 μ l的混匀液(如有沉淀一并移入)移入套有收集管的mini离心柱中, 12000rpm (13000 \times g) 离心1min。弃去离心柱, 保留收集管中的液体。
注 如未能将混匀液一次全部移入, 重复上述操作使剩余液体全部过柱。
8. 全血、血清和血浆样本按步骤“8a”进行, 其它样本按步骤“8b”进行。
 - 8a: 向收集管液体中添加无水乙醇, 添加体积为步骤“5”移入水相体积的7/6, 充分混匀。至步骤“9”。
 - 8b: 向收集管液体中添加无水乙醇, 添加体积为步骤“5”移入水相体积的1.1倍, 充分混匀。至步骤“9”。注: 如加乙醇混匀后出现沉淀, 12000 \times g离心1min, 取上清液至步骤“9”。
9. 将不多于650 μ l的液体移入套有收集管的微量离心柱中, 8000 \times g离心2min。弃去收集管中废液, 将离心柱放回收集管中。
注1: 如未能将液体一次全部移入, 重复上述操作使剩余液体全部过柱。
注2: 本步及后续步骤中离心后如发现微量柱中有液体残留时, 需增加转速再次离心使液体全部滤过。
10. 向离心柱中加入200 μ l溶液W1A, 8000 \times g离心1min。
11. 向离心柱中加入200 μ l溶液RW2, 8000 \times g离心1min。弃去收集管中废液, 将离心柱放回。
12. 重复步骤“11”一次。
13. 12000 \times g离心2 min。
14. 将离心柱从收集管中取出, 放入新的1.5 ml离心管中(使用前将离心管柄处按包装袋上示意图做弯折处理)。向柱中央加入5~20 μ l RNase-free 水, 室温放置2~3min, 12000 \times g离心1min。miRNA即收集到1.5 ml离心管中。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页: www.genepure.com 电话: 4008780133