

血清或血浆 miRNA 提取试剂盒说明书

【产品名称】

通用名称：血清或血浆 miRNA 提取试剂盒

英文名称：Serum or Plasma miRNA Extraction Kit

【包装规格】

25 人份/盒；50 人份/盒

【预期用途】

本试剂盒用于血清血浆样本总RNA和miRNA的提取、富集、纯化，处理后的产物用于检测血清或血浆中miRNA的基因表达情况。

【检验原理】

其主要原理是利用Ezol裂解液裂解样本并释放样本中的核酸，其中RNA会溶解于水相中，而DNA和蛋白处于有机相。加入氯仿萃取有机相，离心取上层水相，加入无水乙醇后RNA溶解度降低结合到纯化柱上，再通过漂洗液清洗去掉盐，最后用洗脱液洗脱，得到高纯度高质量的总RNA并包含高浓度的miRNA。

【主要组成成分】

1. 本试剂盒包装的主要组成成分

序号	组分名称	组分含量	
		25 人份/盒	50 人份/盒
1	Ezol 裂解液	16mL×1 瓶	32mL×1 瓶
2	漂洗液	10mL×1 瓶	10mL×2 瓶
3	洗脱液	4ml×1 瓶	8ml×1 瓶
4	纯化柱（带收集管）	25 个×1 包	25 个×2 包
5	2.0mL 离心管	25 个×1 包	25 个×2 包
6	1.5mL 离心管	25 个×1 包	25 个×2 包

注：不同批号试剂盒中各组分不能混合或交替使用。

2. 本试剂盒不包含，但需配套使用的试剂、耗材及仪器：

- 1) 试剂类：氯仿（三氯甲烷）、无水乙醇；
- 2) 耗材类：无RNase带滤芯吸头、一次性口罩和手套；
- 3) 仪器类：高速冷冻离心机（附带2.0mL离心管的转子）。

【储存条件及有效期】

本试剂盒于室温（10~30℃）储存。可稳定保存 12 个月。

【适用仪器】

无

【样本要求】

1. 本试剂盒适用于血清血浆样本；
2. 推荐提取的样本量为 200μL；
3. 推荐采用新鲜的血清血浆样本，或在 4℃条件下保存 3 天以内的血清血浆样本，或在 -80℃长期保存的血清血浆样本；
4. 本产品适用的血浆样本为 EDTA 和柠檬酸钠抗凝管采集的血浆样本，推荐 EDTA 抗凝管采集的血浆样本；

【检验方法】

1. 试剂准备：

- 1) 自备试剂：氯仿（三氯甲烷），无水乙醇；
- 2) 漂洗液需要加入无水乙醇混匀后使用，无水乙醇加入量请参见瓶签标注，加入后在标签“□”上打“√”做好标记；

2. 提取步骤：

- 1) 取血清或血浆样本200μL，向其中加入3倍体积的Ezol裂解液（即600μL），盖好管盖，剧烈震荡10~15s左右使样本充分裂解；室温静置3-5min；
- 2) 小心打开管盖，再加入1/5倍Ezol裂解液体积的氯仿（即120μL），剧烈震荡15-20s，室温静置2-3min；
- 3) 在高速冷冻离心机上，4℃，12000rpm，离心20min；

- 4) 离心结束后，小心取出离心管到离心管架上，取上清水相到新的2.0mL离心管中，注意不要吸到下部的有机相和蛋白层，上层水相约450 μ L左右，向其中加入上清水相1.5倍体积的无水乙醇，混匀；
- 5) 取带有收集管的纯化柱，向纯化柱中加入700 μ L步骤4)的混合液，静置2min，在高速冷冻离心机上，4 $^{\circ}$ C，10000rpm，离心1min，弃去滤液；
- 6) 剩余的混合液全部按照步骤5)操作；
- 7) 向纯化柱中加入700 μ L的漂洗液，在高速冷冻离心机上，4 $^{\circ}$ C，10000rpm，离心1min，弃去滤液；
- 8) 重复步骤7)；
- 9) 将纯化柱，在高速冷冻离心机上，4 $^{\circ}$ C，10000rpm，空离心2min；
- 10) 离心结束后，小心取出带有收集管的纯化柱（如收集管内有液体，请注意液体切勿溅到纯化柱上），弃收集管，将纯化柱放入新的1.5mL离心管中，向纯化柱中加入100 μ L洗脱液，室温静置2min；
- 11) 在高速冷冻离心机上，4 $^{\circ}$ C，10000rpm，离心1min；
- 12) 离心结束后，弃纯化柱，RNA在1.5mL离心管中；
- 13) RNA暂时存放在4 $^{\circ}$ C条件下，一天内用于下游逆转录实验。（如长期保存应置于-80 $^{\circ}$ C）

3. 质量检验

一般情况下，RNA浓度可通过测量A260值得到，其纯度可通过260/A280比值判断，但由于血清血浆中的RNA含量极低，低于紫外分光光度计的检测下限，无法通过紫外分光光度计检测来判断其浓度及纯度，故直接采用荧光定量PCR检测参考品回收率的方法来判断提取效率；

【产品性能指标】

提取效率：以200 μ L新生牛血清掺入10 μ L的cel-miR-39-3p参考品E8（10⁸ copy/ μ l）为样本，提取3份样本，提取效率均应该大于50%；

【注意事项】

1. 使用前请仔细阅读本说明书，操作人员应接受过专业培训，并具有实际试验操作经验和能力。
2. 若试剂已超过有效期，则不能再使用。

【参考文献】

1. Chomczynski P, Sacchi N. The single-step method of RNA isolation by acid guanidinium thiocyanate-phenol- chloroform extraction: twenty-something years on[J], Nat Protoc,2006,1(2):581-585.

【基本信息】

生产企业名称：苏州吉玛基因股份有限公司
联系方式：0512-86668828
生产地址：苏州市苏州工业园区东平街199号

