

FastPure Serum/Plasma miRNA Advanced Kit Handbook

FastPure 血清/血浆 miRNA 高阶提取试剂盒说明书

产品组成

FastPure miRNA Purification Mini Kit			
产品编号	EK-1318-50T	EK-1318-100T	EK-1318-250T
纯化次数	50 次	100 次	250 次
Buffer ML1	6ml	12ml	30ml
Buffer RP1	3ml	6ml	15ml
Buffer RWT	15ml	30ml	75ml
Buffer RPE	8ml	16ml	40ml
RNase-free Water	10ml	20ml	50ml
RNase-free 吸附柱	50	100	250
2 ml 收集管	50	100	250
使用手册	1	1	1

产品介绍

本试剂盒是最新一代的无毒无酚提取 miRNA 的方法，可以快速地从血浆及血清中提取 miRNA。本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床治疗、食品级化妆品等用途。

存储条件

试剂室温干燥保存可至少稳定 12 个月。

需要额外准备的材料

- 100%异丙醇
- 80%乙醇（RNase-free 水配制）
- 无 RNase 酶的 1.5ml/2ml 离心管
- 无 RNase 酶的吸头
- 干净的手套
- 高速离心机

开始前注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

- Buffer ML1 和 Buffer RWT 作为浓缩液提供可能会形成沉淀，如果有沉淀出现请 37-56°C 加热溶解后室温使用。
- Buffer RWT 作为浓缩液提供，在第一次使用前加入 2 倍体积的乙醇（96-100%）以获得工作溶液。
- Buffer RPE 作为浓缩液提供，在第一次使用前加入 4 倍体积的乙醇（96-100%）以获得工作溶液。
- RNase-free 水中不含任何抑菌因子，室温放置或操作时可能会引入细菌或真菌污染，使用时尽量注意，推荐开瓶后分装保存以减少污染风险保证实验稳定性。
- 若要处理冷冻样品，请在 37°C 的水浴中孵育，直到样品完全解冻并溶解。避免长时间孵育，否则可能会损害 RNA 的完整性。

操作步骤:

1. 准备血清或血浆或解冻冷冻样品。
2. 将 200 μ l 血清或血浆转移到 2ml 管中。
注意: 若需要提取更多体积的样本, 后续试剂按比例增加。
3. 加入 100 μ l Buffer ML1。关闭管盖并涡旋>5 秒。在室温下孵育 3 分钟。
4. 加入 50 μ l Buffer RP1。关闭管盖并通过涡旋剧烈混合>20 秒。在室温下孵育 3 分钟。
注意: 彻底混合对于后续的分相分离很重要。
5. 在室温下以 12000 \times g 离心 3 分钟以沉淀沉淀。
注意: 上清液应为透明无色。
6. 将上清液转移到新的离心管中。
7. 加入 1 倍体积异丙醇, 通过涡旋充分混合。
8. 将全部样品转移到 RNA 吸附柱中。盖上盖子, 以 \geq 8000 \times g 离心 15-30 秒。丢弃滤液。
9. 将 700 μ l Buffer RWT (使用前请确认 Buffer RWT 是否按要求加入 2 倍体积无水乙醇) 加入到 RNA 吸附柱中。盖上盖子, 以 \geq 8000 \times g 离心 15-30 秒。丢弃滤液。
10. 将 500 μ l Buffer RPE (使用前请确认 Buffer RPE 是否按要求加入 4 倍体积无水乙醇) 加入到 RNA 吸附柱中。盖上盖子, 以 \geq 8000 \times g 离心 15 秒。丢弃流出物。
11. 向 RNA 吸附柱中加入 500 μ l 80%乙醇。盖上盖子, 以 \geq 8000 \times g 离心 2 分钟。丢弃滤液。
注意: RNA 吸附柱内柱取出倒滤液时注意不要接触滤液, 防止乙醇残留影响后续结果。
12. 将 RNA 吸附柱内柱放回收集管中。打开离心柱的盖子, 最大转速离心 5 分钟以干燥柱膜。丢弃滤液和收集管。
注意: 最大转速应不低于 12,000 \times g
13. 将 RNA 吸附柱内柱转入新的无酶 1.5ml 离心管中, 并置于无酶的环境中开盖静置 5-10min 至乙醇晾干。

注意: 干燥离心柱膜很重要, 因为残留的乙醇可能会干扰下游反应

14. 向吸附柱膜正中央加入 20-30 μ l RNase-free Water, 盖上盖子并静置 1-2 分钟。后置于离心机中 \geq 12,000 \times g(\geq 13,000 rpm) 离心 3min 得到 miRNA 溶液。

注意: 如果需要更高的 RNA 浓度, 可适当减少 RNase-free water 洗脱, 但离心下来的体积可能会降低导致总产量降低, 因为离心柱膜不能充分水合。洗脱液洗脱后的 RNA 溶液应置于-80 $^{\circ}$ C 储存。