

## MolPure® Serum/Plasma miRNA Kit

### 血清/血浆 miRNA 提取试剂盒

#### 产品简介

MolPure® Serum/Plasma miRNA Kit 适用于血浆、血清、淋巴液等样品中总 RNA 和 miRNA 的提取。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，配合本公司独特的裂解液配方可以最大限度的回收高纯度 RNA 和 miRNA。提取的 RNA 纯度高，质量稳定可靠，可适用于 RT-qPCR 等下游应用实验。

#### 产品信息

货号	19332ES08 / 19332ES50
规格	5 T /50 T

#### 组分信息

类别	组分编号	组分名称	19332ES08	19332ES50
Part I	19332-A	裂解液 LB (LB Buffer S3)	5 mL	50 mL
Part II	19332-B	RNA 吸附柱 S3 (MolPure® RNA Column S3)	5 个	50 个
	19332-C	miRNA 吸附柱 S3 (miRNA Column S3)	5 个	50 个
	19332-D	2 mL 收集管 (2 mL Collection Tube S3)	10 个	100 个
	19332-E	去蛋白液 PL* (PL Buffer S3*)	1.2 mL	12 mL
	19332-F	漂洗液 W* (Wash Buffer S3*)	1.3 mL	13 mL
	19332-G	RNase-free H2O	1 mL	5 mL

#### 储存条件

Part I 组分冰袋运输，4°C避光保存。Part II 组分常温运输，常温保存。产品有效期 12 个月。

#### 注意事项

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
2. 漂洗液 W\*添加乙醇后，易形成沉淀，不影响使用。使用时，吸取上清即可。
3. 裂解液 LB 和去蛋白液 PL\*含有刺激性物质，为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
4. 本产品仅作科研用途！

#### 使用说明

##### 使用前准备

1. 自备设备和试剂：台式离心机、振荡仪、水浴锅或金属浴，氯仿、无水乙醇，RNase-free 离心管等。
2. 除特殊指明外，所有的离心步骤均在室温完成，使用可以达到 12,000 rpm 转速的传统台式离心机。
3. 首次使用前，在去蛋白液 PL\* 和漂洗液 W\*瓶中参照下表加入指定体积的无水乙醇，充分混匀后使用，并做好标记。

编号	组分名称	5 T 规格无水乙醇加入量	50 T 规格无水乙醇加入量
19332-E	去蛋白液 PL*	2.8 mL	28 mL
19332-F	漂洗液 W*	5.2 mL	52 mL

### 一、样本预处理：

1. 取 250  $\mu\text{L}$  血清或血浆等液体样本转移至 1.5 mL 的 RNase-free 离心管中。  
【注】：不足 250  $\mu\text{L}$  时，需用 PBS 或生理盐水补足。
2. 加入 750  $\mu\text{L}$  裂解液 LB，反复吹打，并剧烈振荡混匀。
3. 室温 (22-30 $^{\circ}\text{C}$ ) 静置 5 min。
4. 加入 200  $\mu\text{L}$  氯仿 (自备)，剧烈振荡 15 sec 混匀。
5. 室温静置 2 min。
6. 4 $^{\circ}\text{C}$  12,000rpm 离心 10 min，使样品分层。取上层水相转移至 1.5 mL 的 RNase-free 离心管中。  
【注】：样品会分为三层，下层为有机相，中间层和上层无色的水相，RNA 存在于上层水相中。  
【注】：上层容量约为所加裂解液 LB 总量的 70%。如加入 750  $\mu\text{L}$  裂解液 LB，上层水相约为 525  $\mu\text{L}$ 。建议吸取 500  $\mu\text{L}$ ，以防吸到中间层造成 DNA 污染。

### 二、(推荐) 总 RNA (含 miRNA) 提取方法：

1. 将 RNA 吸附柱 S3 套入 2 mL 收集管中，备用。
2. 加入 1.5 倍上层水相体积的无水乙醇 (自备) 至上层水相，吹打混匀。  
【注】：出现沉淀属正常现象。  
【注】：无水乙醇必须是室温保存。
3. 将上述混合液加入到 RNA 吸附柱 S3 中，12,000 rpm 离心 1 min，弃掉废液。  
【注】：混合液每次最大加入体积 650  $\mu\text{L}$ ，可分多次离心。  
【注】：离心后，若滤膜仍有液体残留，可延长离心时间至 5 min。
4. 加入 700  $\mu\text{L}$  去蛋白液 PL<sup>\*</sup>，12,000 rpm 离心 30 sec，弃废液。  
【注】：确保去蛋白液 PL<sup>\*</sup>已添加无水乙醇。
5. 将 RNA 吸附柱 S3 放回收集管，加入 500  $\mu\text{L}$  漂洗液 W<sup>\*</sup>，12,000 rpm 室温离心 30 sec，弃废液。  
【注】：确保漂洗液 W<sup>\*</sup>已添加无水乙醇。
6. 重复一遍步骤 5。
7. 将 RNA 吸附柱 S3 放回收集管，空柱 12,000 rpm 室温离心 2 min，以除去残留的漂洗液 W<sup>\*</sup>。
8. 将 RNA 吸附柱 S3 放入新的 1.5 mL RNase-free 离心管中，在 RNA 吸附柱 S3 中央加入 30-50  $\mu\text{L}$  RNase-free H<sub>2</sub>O，室温放置 2 min。然后 12,000 rpm 离心 1 min。收集滤液，即为 RNA 溶液。  
【注】：可通过以下方式提高回收产量：①65 $^{\circ}\text{C}$ 预热 RNase-free H<sub>2</sub>O；②将 RNA 滤液再次上柱，室温放置 2 min 后，洗脱。
9. RNA 溶液可置于 -80 $^{\circ}\text{C}$  长期保存。

### 三、仅当 miRNA 提取量不理想时，可尝试用 miRNA 富集方法：

1. 将 RNA 吸附柱 S3 和 miRNA 吸附柱 S3 分别套入 2 mL 收集管中，备用。
2. 加入 0.5 倍上层水相体积的无水乙醇 (自备) 至上层水相，吹打混匀。  
【注】：无水乙醇必须是室温保存。
3. 将上述混合液加入到 RNA 吸附柱 S3 中，12,000 rpm 离心 1 min，收集滤液。并将滤液转移至新的 RNase-free 离心管中。  
【注】：混合液每次最大加入体积 650  $\mu\text{L}$ ，可分多次离心。  
【注】：miRNA 在滤液中，吸附柱上为去除 miRNA 的总 RNA。
4. 计算滤液体积，加入 0.65 倍体积室温保存的无水乙醇，吹打混匀。
5. 将上述混合物加入 miRNA 吸附柱 S3 中，12,000 rpm 离心 1 min，弃掉滤液。  
【注】：混合液每次最大加入体积 650  $\mu\text{L}$ ，可分多次离心。  
【注】：离心后，若滤膜仍有液体残留，可延长离心时间至 5 min。
6. 按照总 RNA (含 miRNA) 提取方法步骤 4~9 漂洗，获取 miRNA。  
【注】：此操作中，步骤 4~9 用到的离心柱应为 miRNA 吸附柱 S3。