

Cell/Tissue miRNA Extraction Kit

细胞/组织样本 miRNA 提取试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1533A	细胞/组织样本 miRNA 提取试剂盒	50T
BL1533B	细胞/组织样本 miRNA 提取试剂盒	250T

产品简介:

本试剂盒用于从各种动物组织、植物组织和细胞中提取 miRNA。提取的 miRNA 分子完整、纯度高，适用于 Northern Blot、Real-Time PCR、miRNA 微阵列芯片、原位杂交、RNase 保护测定等各种分子生物学实验。

产品组成:

编号	组分	规格	
		BL1533A	BL1533B
1	Buffer RI	25mL	125mL
2	Buffer RII	10mL	50mL
3	Buffer TE	6mL	30mL
4	RNase-Free Mini Columns	50 个	250 个
5	2mL 收集管	50 个	250 个
6	1.5mL 离心管	50 个	250 个

实验准备

1. 所有试剂用 DEPC 处理过的溶剂配制。请选用 RNase-free 枪头和离心管，以避免提取过程中 RNA 被 RNase 降解。
2. 70%乙醇，-20°C 预冷。

使用方法

不同的样品提取 miRNA 的操作中略有区别，具体步骤分述如下：

一、从动物组织中提取 miRNA

1. 取 20-40 mg 组织，转移至预冷的研钵中，加液氮研磨成粉末。

参考下面说明使用组织的量：

样本类型	加入量
RNA 丰富的组织 (如肝脏)	不超过 30mg
RNA 含量低的组织 (如肌肉)	不超过 100mg
当使用的组织量小于 20mg 时	RI, RII 和异丙醇的使用量都减半
当使用的组织量大于 40mg 时	RI, RII 和异丙醇的使用量按比例增加

2. 加入 400 μ L Buffer RI，反复抽打 8-10 次，转入 1.5mL 离心管中。
3. 加入 150 μ L Buffer RII，漩涡振荡 15-30s，12,000 \times g 4°C 离心 5min。
4. 取上清至 1.5mL 离心管中，加入 180 μ L 无水乙醇，混和均匀。
5. 将 RNase-Free Mini Columns 吸附柱置于 2mL 收集管中，转移步骤 4 中的混合液到吸附柱中，12,000 \times g 4°C 离心 1min。
6. 弃吸附柱，在滤液中加入 500 μ L 异丙醇，混和均匀，12,000 \times g 离心 10min，弃上清。
7. 加入 700 μ L 70%乙醇（-20°C 预冷），12,000 \times g 离心 5min。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



8. 弃上清,室温干燥 5-10min。
9. 向离心管中加入 70 μ L Buffer TE (nuclease-free) 或 RNase-free 水洗脱 miRNA。

二、从植物组织中提取 miRNA

1. 取 30-150 mg 组织,转移至预冷的研钵中,加液氮研磨成粉末。

参考下面说明使用组织的量:

样本类型	加入量
植物叶子	通常用量 10-80mg
植物纤维组织	通常用量 100-150mg
当植物叶组织量小于 30 mg 时	RI, RII和异丙醇的使用量都减半
当植物叶组织量大于 80 mg 时	RI, RII和异丙醇的使用量按比例增加
当植物纤维组织量大于 150 mg 时	RI, RII和异丙醇的使用量按比例增加

2. 加入 400 μ L Buffer RI, 反复抽吸 8-10 次, 转入 1.5mL 离心管中。
3. 加入 150 μ L Buffer RII, 漩涡振荡 15-30s, 12,000 \times g 4 $^{\circ}$ C 离心 5min。
4. 取上清至 1.5mL 离心管中, 加入 180 μ L 无水乙醇, 混和均匀。
5. 将 RNase-Free Mini Columns 吸附柱置于 2mL 收集管中, 转移步骤 4 中的混合液到吸附柱中, 12,000 \times g 4 $^{\circ}$ C 离心 1min。
6. 弃吸附柱, 在滤液中加入 500 μ L 异丙醇, 混和均匀, 12,000 \times g 离心 10min, 弃上清。
7. 加入 700 μ L 70%乙醇 (-20 $^{\circ}$ C 预冷), 12,000 \times g 离心 5min。
8. 弃上清,室温干燥 5-10min。
9. 向离心管中加入 70 μ L Buffer TE (nuclease-free) 或 RNase-free 水洗脱 miRNA。

三、从细胞中提取 miRNA

A. 悬浮培养的动物细胞或从培养皿、培养瓶中获得的细胞悬浮液或新鲜分离的动物组织单细胞悬浮液:

- 1A. 收集 2×10^6 - 1×10^7 的细胞, 2,000 \times g 离心 5min, 弃上清。
- 2A. 加入 400 μ L Buffer RI, 反复抽吸 8-10 次, 转入 1.5mL 离心管中。
- 3A. 加入 150 μ L Buffer RII, 漩涡振荡 15-30s, 12,000 \times g 4 $^{\circ}$ C 离心 5min。

B. 96-孔, 24-孔, 12-孔, 或 6-孔培养板上贴壁培养的细胞:

- 1B. 从 96-孔, 24-孔, 12-孔或 6-孔培养板里收集细胞, 尽量弃去培养基, 每孔加入 400 μ L Buffer RI, 用移液枪上下吹打 8-10 次。
- 2B. 转移上述细胞悬浮液到 1.5mL 离心管 (试剂盒内提供) 中, 反复抽吸 8-10 次。
- 3B. 加入 150 μ L Buffer RII, 漩涡振荡 15-30s, 12,000 \times g 4 $^{\circ}$ C 离心 5min。
4. 取上清至 1.5mL 离心管中, 加入 180 μ L 无水乙醇, 混和均匀。
5. 将 RNase-Free Mini Columns 吸附柱置于 2mL 收集管中, 转移步骤 4 中的混合液到吸附柱中, 12,000 \times g 4 $^{\circ}$ C 离心 1min。
6. 弃吸附柱, 在滤液中加入 500 μ L 异丙醇, 混和均匀, 12,000 \times g 离心 10min, 弃上清。
7. 加入 700 μ L 70%乙醇 (-20 $^{\circ}$ C 预冷), 12,000 \times g 离心 5min。
8. 弃上清,室温干燥 5-10min。
9. 向离心管中加入 70 μ L Buffer TE (nuclease-free) 或 RNase-free 水洗脱 miRNA。

注意事项:

1. Buffer RI 含刺激性化合物, 操作时要戴乳胶手套和眼镜, 避免沾染皮肤、眼睛衣服, 谨防吸入口鼻。
2. 本产品仅限于专业人员的科学研究用, 不得用于临床诊断或治疗, 不得用于食品或药品;
3. 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期:

室温保存 12 个月。

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.
 注意: 在体外研究使用, 不用于诊断或治疗用途, 本产品不是医疗装置。

