



血浆/血清 small RNA提取试剂盒

(磁珠法)

说明书

【产品名称】

血浆/血清small RNA提取试剂盒 (磁珠法)

【包装规格】

32 rxns

【预期用途】

用于血浆/血清small RNA的提取、富集、纯化等步骤。

【提取原理】

本试剂盒采用表面活性剂十二烷基硫酸钠和吐温20破坏血浆/血清中有细胞膜结构的成分, 异硫氰酸胍变性蛋白释放核酸, 使用具有专利结构的硅磁聚体吸附small RNA, 并利用硅磁聚体可逆磁响应的物理性质富集和清洗非特异性结合的杂质和盐, 使用洗脱液将纯化后的small RNA从硅磁聚体中分离, 得到满足下游检测需求的small RNA。

【主要组成成分】

组成成分	主要化学成分	规格	数量
裂解结合液	异硫氰酸胍、十二烷基硫酸钠、吐温20、氯化钠、柠檬酸钠、乙二胺四乙酸	110 mL/瓶	1
磁珠结合液	异硫氰酸胍、聚乙二醇、硅磁聚体	1.6 mL/瓶	1
蛋白酶K溶液	蛋白酶K	1.8 mL/支	2
洗脱液	无核酸酶水	1.2 mL/支	1

注: 不同批号试剂盒中各组分不可以互换。

【需要单独提供的材料】

- 15 mL无核酸酶离心管
- 15 mL离心管磁力架
- 1.5 mL无核酸酶离心管

- 1.5/2.0 mL离心管磁力架
- 计时器
- 可调式混匀仪
- 恒温水浴锅或电热恒温鼓风干燥箱
- 吸水纸
- 不同量程移液器及配套移液器枪头
- 桌面小型离心机
- 无水乙醇 (分析纯)

【储存条件及有效期】

1. 储存条件及有效期

2~30℃储存, 有效期12个月, 禁止冷冻。

生产批号、使用期限见外包装。

2. 开封有效期

开封后, 试剂盒有效期3个月。

【样本要求】

- 新鲜采集或冻存的血浆/血清样本。
- 冻存样本在提取前需室温条件下完全解冻, 混合均匀后使用。
- 血浆/血清样本不能存在肉眼可见的血细胞; 若存在, 需经4℃、3000 g离心10 min, 弃去血细胞后方可进行提取。

【提取方法】

1. 试剂准备

- 裂解结合液使用前在60℃条件下放置10 min至溶液澄清后混合均匀;
- 磁珠结合液使用前需恢复室温并振荡均匀后使用;
- 新鲜配置的80%乙醇溶液备用 (2 mL/样本)。

2. 如提取血浆/血清体积少于1 mL, 可使用无核酸酶水或PBS缓冲液补足至1 mL。

3. 操作步骤

提取前需将恒温水浴锅或电热恒温鼓风干燥箱设置为60℃备用。

- 在15 mL离心管中加入1 mL血浆/血清和2 mL裂解结合液, 涡旋混匀5 s;
- 加入蛋白酶K溶液100 µL, 涡旋混匀5 s;
- 加入磁珠结合液40 µL, 涡旋混匀15 s;
- 放在60℃恒温水浴锅或电热恒温鼓风干燥箱中孵育10 min;
- 孵育结束后取出 (若使用水浴锅时需使用吸水纸擦干离心管表面), 加入5.84 mL无水乙醇, 涡旋混匀15 s后置于15 mL磁力架上;
- 静置溶液澄清后 (2 - 5 min), 使用移液器吸弃上清;
- 向15 mL离心管中加入 0.4 mL裂解结合液和 0.6 mL无水乙醇, 涡旋振荡15 s后将液体全部转移至1.5 mL离心管中;
- 将1.5 mL离心管瞬时离心后静置于1.5/2.0 mL离心管磁力架至溶液澄清 (2 - 5 min) 后使用移液器吸弃上清;
- 向1.5 mL离心管中加入0.4 mL裂解结合液和0.6 mL无水乙醇, 涡旋振荡15 s, 将1.5 mL离心管瞬时离心后静置于1.5/2.0 mL离心管磁力架至溶液澄清 (2 - 5 min) 后使用移液器吸弃上清;
- 向1.5 mL离心管内加入1 mL新鲜配置的80%乙醇溶液, 振荡

- 混匀15 s后瞬时离心, 置于1.5/2.0 mL离心管磁力架上至溶液澄清 (2 - 5 min), 使用移液器吸弃上清;
- 重复3.10 一次;
- 向1.5 mL离心管内加入1 mL无水乙醇, 振荡混匀15 s后瞬时离心, 置于1.5/2.0 mL离心管磁力架上至溶液澄清 (2 - 5 min), 使用移液器吸弃上清;
- 将离心管瞬时离心, 置于1.5/2.0 mL离心管磁力架上至溶液澄清, 使用100/200 µL移液器吸弃残留液体;
- 将1.5 mL离心管开盖置于65℃金属浴干燥6 min后加入30 µL洗脱液, 振荡混匀15 s, 65℃金属浴孵育 5 min;
- 将1.5 mL离心管瞬时离心, 将所有液体收集到离心管底部后在1.5/2.0 mL离心管磁力架上静置至溶液澄清 (2 - 5 min);
- 将上清液小心转移至新的离心管中, 避免吸到磁珠, 立即进行下游实验或者放入-80℃保存备用。

【注意事项】

- 开始检测前请仔细阅读本说明, 并严格按照要求执行;
- 为了避免样本中任何潜在的生物危害, 处理的样本应视为具有传染风险物质, 操作过程须有相应的防护措施, 避免接触到皮肤和粘膜, 产生的废弃物须按生物污染物处理程序进行处理;
- 包装破损、标识不清、超过有效期的试剂, 请勿使用;
- 推荐提取产物去除gDNA后, 进行下游的RNA定性定量分析。

【基本信息】

生产企业名称: 杭州新辉生物技术有限公司

生产地址: 杭州市滨江区长河街道江二路 400 号 1 幢 1 层 103 室