

# Biospin miRNA Extraction Kit

## Biospin miRNA 提取试剂盒

**TECHNICAL SUPPORT:**

For technical support, please dial phone number : 0086-571-87774567-5215 or 5211, or fax to  
0086-571-87774553

Email to [reagent@bioer.com.cn](mailto:reagent@bioer.com.cn).

**Website: [www.bioer.com.cn](http://www.bioer.com.cn)**

## 试剂盒组成

货号	BSC64S1	BSC64M1
试剂盒组成	50 人份	100 人份
BIOZOL Reagent	35ml	70ml
Wash Buffer	12ml (使用前加入 48ml 乙醇)	24ml (使用前加入 96ml 乙醇)
RElution Buffer	20ml	40ml
Spin columns	50	100
说明书	1 份	1 份

## 储存与运输

- ◆ 该提取试剂盒于室温保存，BIOZOL Reagent 保存于 2-8℃，有效期为 1 年。
- ◆ 试剂盒可在常温下运输。

## 介绍

本试剂盒可直接从各类样本中，如动物组织、细胞、细菌等（不推荐植物组织）提取包含 miRNA 和其他小 RNA 的总 RNA。首先使用 BIOZOL Reagent 处理样本，加入氯仿后 RNA 与 DNA 及蛋白等分离，加入乙醇后使得 RNA 结合于 spin column（可确保 18nt 以上的 RNA），再经过洗涤、洗脱操作即可得到 RNA。

本试剂盒操作简便易行，可以同时处理多个样品，得到高质量的总 RNA。纯化的 RNA 可以直接用于 Northern blot, RNase protect assay, RT-PCR/Real time RT-PCR analysis, construction cDNA library , microarray analysis 等下游实验。

## 需要的配套设备和材料

- \* 无菌无酶的 1.5ml 离心管
- \* 离心机（最大转速 > 14,000rpm）
- \* 漩涡振荡器
- \* 无菌无酶的各种规格移液器吸头
- \* 无酶无水乙醇
- \* 氯仿

## 重要提示

**Wash Buffer** 在使用前请按照瓶身标签标明体积加入无水乙醇，并将其混匀。

## 操作步骤

1. 样本处理
  - a) 取 700  $\mu$ l BIOZOL Reagent 加入 1.5 或 2.0ml 微量离心管中, 加入不多于 30mg 经液氮研磨的样本, 并振荡混合均匀, 于室温静置 5 分钟。
  - b) 取 600  $\mu$ l BIOZOL Reagent 加入 1.5 或 2.0ml 微量离心管中, 加入 200 $\mu$ l 的血清/血浆样本, 并振荡混合均匀, 于室温静置 5 分钟。
2. 加入 140  $\mu$ l 的 氯仿, 振荡混合均匀后, 于 12,000 rpm 离心 15 分钟。
3. 吸取 350  $\mu$ l 上清液至新离心管中。
4. 加入 820  $\mu$ l 无水乙醇, 并混合均匀。将混合液体转移至 Spin column。于 6,000 rpm 离心 1 分钟, 并弃去接液管中液体。
5. 向 Spin column 中加入 500  $\mu$ l 的 Wash Buffer, 于 12,000 rpm 离心 1 分钟, 并弃去接液管中液体。
6. 向 Spin column 中加入 500  $\mu$ l 的 Wash Buffer, 于 12,000 rpm 离心 1 分钟, 并弃去接液管中液体。
7. Spin column 在无液体状态下, 于 12,000 rpm 离心 2 分钟, 以便将结合膜上残液去除干净。并将 Spin column 转移至一个新的 1.5ml 离心管。
8. 向 Spin column 中加入 30-50  $\mu$ l RElution Buffer, 并于室温温育 1 分钟。
9. 于 12,000 rpm 离心 1 分钟, 并弃去 Spin column。1.5ml 离心管中液体含有 RNA。
10. 提取的 RNA 可直接用于各种下游应用实验, 如不立即使用, 请于-80 $^{\circ}$ C 保存。

## 常见问题及对策

1. 试剂盒室温保存, BIOZOL Reagent 保存于 2-8 $^{\circ}$ C, 保质期 1 年。
2. 离心速度除已说明外均为 12,000rpm, 室温离心 (有条件可 4 $^{\circ}$ C 离心)。
3. 在使用前请先按照瓶身标签标明体积加入无水乙醇, 并将其混匀。
4. 避免环境中 RNA 酶污染, 操作要戴手套, 所有枪头和 eppendorf 管以 DEPC 水处理, 移液枪保证洁净无 RNA 酶污染。如果把试剂放在超净台 (普通超净台或专用的桌面 PCR 超净台) 中操作, 可以有效减少 RNA 酶污染。
5. 提取的总 RNA 置于 4 $^{\circ}$ C 或冰浴中, 立即用于下游实验 (如 RT-PCR); 或立即置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。无论采用何种方法提取和保存的 RNA, 都往往会被很快降解, 因而建议避

免提取RNA 后保存。建议先将标本保存在RNA 保存液或液氮中，来保证RNA 质量不  
受影响，用试剂盒抽提仍可以获得高质量的RNA。

### 实验举例：

⊕ Real-Time PCR Analysis (Rat rno-miR-21)

