

HiPure Liquid RNA&miRNA Mini to Midi Kit

体液 RNA&miRNA 小柱中提试剂盒

本产品适合于从各种 2~5ml 全血、血清、血浆、体液、尿液等液体生物样品中提取高纯度总 RNA，包括 miRNA 和游离 RNA。试剂盒结合了两种高效的 RNA 抽提技术，将一步法的 RNA 抽提技术和硅胶柱 RNA 纯化技术结合起来，可最大程度上提高 RNA 的纯度。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern Blot、poly A+纯化、核酸保护和体外翻译等实验。

产品组份

产品编号	R4315-01	R4315-02	R4315-03
纯化次数	2 次	10 次	50 次
纯化大柱 F4	2	10	50
50ml 离心管	2	10	50
5ml 圆底离心管	2	10	50
MagZol 3BD Reagent	15 ml	80 ml	450 ml
Buffer BCP2	1.5 ml	10 ml	45 ml
DNase I	150 ul	150 ul	600 ul
DNase Buffer	1.5 ml	1.5 ml	6 ml
Buffer RWC	2 ml	10 ml	30 ml
Buffer RW2*	10 ml	10 ml	50 ml
RNase Free Water	1 ml	1 ml	10 ml
说明书	1	1	1

版本号：2025-10

保存条件

本产品除 Magzol 3BD 和 Buffer BCP2 外,其它组份可在室温保存 18 个月。Magzol 3BD 和 Buffer BCP2 室温运输,收到产品后保存于 2~8℃。DNase I 冰盒运输,收到产品后,收到产品后保存于-20℃。

需要准备材料和工具

- 无水乙醇(96-100%)
- 按瓶子标签所示,加入适量的无水乙醇稀释 Buffer RW2,并于室温保存。
- 按瓶子标签所示,加入适量的无水乙醇稀释 Buffer RWC,并于室温保存。
- 若采用水平或桶状离心机时,把离心速度调至最高速度(~5000rpm),由于水平转子离心力比较低,洗脱时死体积较大(~50 μ l),建议每次加入不少于 100 μ l 洗脱液以充分洗脱出 DNA。使用角度离心机时,洗脱时提高离心速度至 11000rpm,可以有效减少体积至~10 μ l,此时为获得更高浓度核酸,每次洗脱可以低至 60 μ l。

实验步骤

1. 在 15~50 ml 离心管中,加入 2.0~5.0ml 抗凝血液、血浆、血清、唾液、尿液、拭子浸泡液、细胞悬液或其它液体样品。
2. 加入 1.5 倍样品体积的 MagZol 3BD Reagent,立即用力上下剧烈振荡混匀 15 秒,涡旋混匀 10~20 秒或直至样品形成无明显大块且均匀的匀浆液,室温放置 10 分钟。
 - 全血或体液采集到含 EDTA 的抗凝的真空采血管中,并尽快转移至含有 Magzol 3BD 的离心管中,充分混匀对 RNA 产量很关键。
 - 冻存样品:提取 RNA 时,在不解冻情况下,在冷冻血液或体液样品中,加入 1.5 倍体积的 MagZol 3BD Reagent,颠倒或摇动直至样品完全解冻,不要在没有试剂的情况下解冻血液或体液样本,这将导致 RNA 降解。
 - 低温保存样品:转移血液或体液样品至 15~50ml 离心管中,然后加入 1.5 倍体积的 MagZol 3BD Reagent,剧烈快速上下振荡 15 秒,涡旋混匀 10 秒,该裂解物可以在-70℃下储存至少 2 年,在-20℃下至少 6 个月,在 2~8℃下至少 10 天。
 - 若样品中存在明显的块状物质,用 5ml 移液器反复吸打多次打散凝块。

3. 加入 0.1 倍 MagZol 3BD Reagent 体积的 Buffer BCP2, 用手上下剧烈振荡混匀 15 秒, 4°C, 10000 rpm 离心 15 分钟。
例: 5ml 全血, 加入 7.5ml MagZol 3BD Reagent 混匀后, 加入 0.75ml Buffer BCP2。
4. 转移上清液至新的离心管中, 加入 1.5 倍体积的无水乙醇, 颠倒混匀 6-8 次。
若只需要提取 mRNA(>200nt)时, 加入 0.5 倍体积的无水乙醇。
5. 将纯化大柱 F4 在 50ml 收集管中, 把不超过 16ml 混合液转移至柱子中。8,000rpm 离心 1 分钟。
纯化柱的最大容积为 16ml, 若混和液超过 16ml 时, 需要分 2 次过柱。
6. 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中。加入 1.0ml Buffer RW2 至柱子中, 8,000rpm 离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中, 加入 100ul DNase Mixture (90ul DNase Buffer/10ul DNase I 混匀) 至柱子中, 室温放置 20 分钟。
8. 加入 1.0ml Buffer RWC 至柱子中, 静置 2 分钟, 8,000rpm 离心 1 分钟。提取小分子 RNA 时, 再把全部滤液转移至柱子中, 8,000rpm 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中。加入 3.5ml Buffer RW2 至柱子中, 8,000rpm 离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中。8,000rpm 离心 5 分钟甩干柱子。
11. 取出柱子, 倒弃滤液, 反扣于吸水纸上拍打吸尽残液, 然后放入一个新的 5ml 离心管 (还可以再装一个 1.5ml 离心管) 至 50ml 收集管中。
12. 加入 60~100 μ l Nuclease Free Water 至纯化大柱 F4 的膜中央, 放回收集管中并让柱子底部插入 5ml 离心管中, 静置 2 分钟, 11000rpm 离心 2 分钟。
这一步推荐高速角度离心机以充分甩出洗脱液。若采用只有水平桶状离心机, 调整至最高速度, 并进行两次洗脱, 每次至少用 80ul 洗脱液。
13. (可选) 再加入 20~100ul Nuclease Free Water 至柱子膜中央, 放置 2 分钟。
11,000rpm 离心 2 分钟。
14. 弃去柱子, 小心用镊子或移液枪头挑出 5ml 离心管, 盖好盖子, 待用或保存于-20 度。

常见问题回答

该列表可能有利于解决您在提取过程中所碰到的问题。Magen 的技术人员也可以随时为您提供咨询服务，若您对试剂盒存在疑问或有良好的建议，又或者您在分子生物学实验中碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽所能为您排忧解难。

现象	原因及解决方法
离心后分层现象不明显	
没有加入 BCP2	确保加入 BCP2，BCP2 不要含有异戊醇或其它添加成分。
加入 Buffer BCP2 后混匀效果不好	加入 Buffer BCP2 后，一定要用手剧烈振荡混匀 15 秒。缓慢颠倒或涡旋会导致分层不明显或杂质的污染。如果离心后分层不明显，再剧烈混匀 15 秒后离心。
样品中含有有机溶剂	若样品含有有机溶剂如 DMSO，乙醇，强碱试剂，会影响分层。
RNA 产量低	
RNA 的洗脱效率低	RNase Free Water 没有加到膜上，或洗脱体积不够。再加入 30-50 μ l RNase Free Water 到膜上，室温静置 2 分钟，然后离心洗脱 RNA。
Buffer RW2 没有加入乙醇稀释	使用前，Buffer RWC/RW2 必须加入无水乙醇进行稀释
DNA 污染	
没有进行 DNase I 消化	不要省略 DNase I 膜上消化步骤，确保 DNase I 消化液全部加到膜中央。
Buffer BCP2 抽提振荡不够	加入 Buffer BCP2 后，盖紧盖子。然后用手剧烈上下振荡 15 秒。不要用涡旋或颠倒混匀。
下游实验结果不理想	
盐分污染	加入 Buffer RW2 后，静置 5 分钟后，再离心。
乙醇污染	确保空柱离心速度高于 10,000xg，离心时间为 2 分钟。
OD260/OD230 比值不正常	
增加多一次 Buffer RW2 洗涤	增加多一次 Buffer RW2 洗涤