

CAT#: GZ010606



柱式 miRNA PAGE 胶回收试剂盒

miRNA PAGE Extraction Kit

(离心柱型)

使用手册 V1.0

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

产品及特点

本试剂盒采用新型硅基质膜离心柱及特殊的缓冲液系统，可从聚丙烯酰胺凝胶中简便高效回收 200 nt 以下的小片段 RNA，尤其是 20 nt 左右的 microRNA(miRNA)分子。回收效率可高达 85%。并可最大限度去除杂质，获得高纯度的 RNA，所得到的 DNA 可直接用于反转录、miRNA 测序建库等后续分子生物学试验。它具有下列特点：

1. 可以回收 15-3000 nt 范围内的各种长度的 RNA，包括 100 nt 以下的 miRNA 片段。
2. 使用了优质结合液，不含传统结合液的碘化钠和高氯酸盐，不抑制回收后反转录、测序建库等下游反应。
3. 独特的配方保证了该试剂盒比一般试剂盒回收效率大大提高。
4. 快速、方便离心柱型，不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀。

成分规格

产品组成	规格(50T)
平衡液	5ml
结合液 MRB (concentrate)	40 ml
缓冲液 DB	30 ml
漂洗液 RW (concentrate)	10 ml
RNase-free H ₂ O	10 ml
吸附柱 EC	50 个
收集管 (2ml)	50 个

(注意：第一次使用前，按说明将 60ml 异丙醇加入到结合液 MRB 中，42ml 乙醇加入到漂洗液 RW 中)

保存条件

在室温(15-25℃)干燥条件下，可保存 12 个月。

储存事项：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。

使用方法

关于平衡液的使用

1. 介绍：核酸吸附硅胶膜柱子长期放置过程中会同空气中的电荷/尘埃发生反应而影响其核酸的结合能力。硅胶柱经平衡液预处理后可大大减少柱子中硅胶膜的憎水基团，提高核酸的结合能力。从而提高硅胶柱子回收效率或者产量。平衡液是强碱性溶液，若不小心碰到，请用大量自来水清洗。用完后需盖紧瓶盖，以免接触空气。室温保存。在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至 37°C 使沉淀完全消失。
2. 使用方法：取一个新的硅胶膜吸附柱子装在收集管中，吸取 100μl 的平衡缓冲液至柱子中。13,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中废液，将吸附柱子重新放回收集管。此时平衡液预处理柱子完毕。接后续的操作步骤。

纯化操作步骤：

（第一次使用前请先在 Binding Buffer 瓶中加入指定量异丙醇！第一次使用前请先在漂洗液 RW 中加入指定量无水乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！）

1. 切取含 RNA 片段的 PAGE 凝胶（100 mg 左右，尽可能多地把多余的胶切除，否则会影响回收效率），放入 1.5 mL 离心管中，用移液枪头尽可能捣碎（最好先在酒精灯上将枪头的口烧密闭再用于捣碎），捣得越细越好。
2. 向凝胶中加入 1-2 倍体积的缓冲液 DB（如 100mg 凝胶加入 100-200μl 缓冲液 DB），55°C 温浴 30 分钟-2 小时，期间每 15 分钟涡旋震荡混匀，促进胶中 RNA 扩散到溶液中。

一般来说，回收片段越大，RNA 扩散需要的时间越长，小于 100 nt 左右的 RNA 片段温浴 30 分钟就可以（时间长些也不影响回收效果）；如果回收 RNA 片段较大，可以将温浴时间适当延长。

3. 13,000 rpm 离心 5 分钟。小心取上清转入新的离心管。记录上清体积。
4. 加入 9 倍上清体积的结合液 MRB，混匀。

回收片段 > 200 nt 时，加 5 倍上清体积的结合液 MRB 即可。

平衡液预处理吸附柱：

使用平衡液预处理硅胶膜吸附柱为必做步骤，具体方法参见前文“关于平衡液的使用”

5. 将上一步所得溶液加入吸附柱 EC 中（吸附柱放入收集管中），室温放置 1 分钟，13,000 rpm 离心 30 秒，倒掉收集管中的废液。

吸附柱最大容积为 750μl，若溶液体积大于 750μl，可分批加入。

6. 加入 500μl 漂洗液 RW（请先检查是否已加入无水乙醇！），13,000 rpm 离心 30 秒，

弃掉废液。

7. 重复步骤 6 一遍。
8. 将吸附柱 EC 放回空收集管中，13,000 rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
9. 取出吸附柱 EC，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加 30-50μl RNase-free H₂O，室温放置 2 分钟，13,000 rpm 离心 1 分钟。如果需要较高浓度核酸，可将得到的溶液重新加入吸附柱中，离心 1 分钟。
10. 洗脱体积越大，洗脱效率越高。如果需要核酸浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于 25μl，体积过小降低核酸洗脱效率，减少产量。

注意事项

- 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机。
- 结合液中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，**避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要立即用大量清水或者生理盐水冲洗。**
- 电泳时最好使用新的电泳缓冲液，以免影响电泳和回收效果。
- 切胶时，紫外照射时间应尽量短，以免对 RNA 造成损伤。也可以选择可见光染料染色后在可见光下切胶会避免紫外对 RNA 损伤。
- 回收率与片段大小、凝胶浓度、初始 RNA 量和洗脱体积有关。

关联产品

产品编号	产品名称
GZ070101-500	GeneRed 核酸染料
GZ070102-500	Geneblue 核酸染料
GZ020101-1	2×Taq PCR MasterMix（含染料）
GZ020701-1	2 × Probe qPCR Mix
GZ020801-1	2×SYBR qPCR Mix



关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯