



Protein Biotechnologies

PAX Blood miRNA Kit

货号：PR620



Protein Biotechnologies

PAX Blood miRNA Kit

货号：PR620

北京普鲁顿生物科技有限公司 Protein Biotechnology Co., Ltd



Protein Biotechnologies

Protein Biotechnology Co., Ltd

免费咨询热线：400-999-4431

网站：www.proteinbiotechnology.com

销售：sales@proteinbiotechnology.com

市场：admin@proteinbiotechnology.com

技术：support@proteinbiotechnology.com

- 血清血浆microRNA提取试剂盒
- 目录号 PR620
- 使用手册
- 实验室使用, 仅用于体外



产品简介

PAX Blood miRNA Kit 用于配套 PAXgene Blood RNA Tubes 使用，PAXgene Blood RNA Tubes 采集血样后可以在 18–25°C 条件下可稳定多至 3 天，在–20°C 或–70°C 条件下至少稳定 50 个月。本产品可以提取保存在采血管的全血中分离和纯化大于 18nt 的总 RNA（含 miRNA），与采样、稳定及纯化形成整合的系统。PAX Blood RNA 系统包括用于血液采集、稳定和运输的 PAXgene Blood RNA Tubes（由 BD 提供，货号 762165），以及基于硅胶膜技术、离心柱法分离纯化的 PAX Blood miRNA Kit。纯化可使用离心机进行手工操作，也可在 QIAcube 全自动核酸纯化仪上自动运行。该产品表现卓越，确保高度可靠的 RNA 纯化。

产品应用

用于从存储在保存试剂和PAXgene®血液RNA管血样提取microRNA。

产品优点

- 无毒：不使用有毒的苯酚，氯仿等试剂，也无需乙醇沉淀等步骤。
- 快速：单个样品操作过程一般可在 60 分钟内完成。
- 高纯：多次柱漂洗确保高纯度，可用于 RNAi, RT-PCR, Northern-blot 等各种实验。
- 稳定：离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口世界著名公司特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。

试剂盒组分及储存

试剂盒组成	保存	PR620 50T
重悬液 RSB	室温	20 ml
结合液 CB	室温	50 ml
漂洗液 MW1	室温	12 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
漂洗液 MW2/3	室温	10 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml
DNase Buffer	–20 °C	1.5 ml x 2
RNase free DNase I	–20 °C	250 µl
蛋白酶 K (20mg / ml)	–20 °C	20 mg
RNA 吸附柱 RA 和收集管	室温	50 套

备注：本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。



注意事项

1. 所有溶液应是澄清的，如果环境温度过低时溶液可能形成沉淀，此时不应该直接使用，可以在 37°C 水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
3. 所有的离心步骤如未加说明均在室温完成，离心机转速不低于 13,000 rpm。
4. 需要自备无水乙醇。

操作步骤（实验前请先阅读注意事项）

注意：第一次使用前请先在漂洗液 MW 瓶中加入指定量乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！

1. PAXgene®血液RNA管3,000-5,000 x g离心10分钟，丢弃上清。
2. 加入 4mL RNase-free H₂O 至 PAXgene®血液 RNA 管，漩涡混匀，再 3,000-5,000 x g 离心 10 分钟，丢弃上清。

注意：不完全除去上清液会降低裂解效率和稀释裂解物，从而降低了 RNA 得率。

3. 加入 350 µl 重悬缓冲液 RSB，涡旋沉淀。
4. 加入 300 µl 结合液 CB 和 20µl 蛋白酶 K 溶液，漩涡 5 秒混匀，55°C 振荡孵育 10 分钟，将上清液转移到一个新的离心管中 13,000rpm 离心 3 分钟。
5. 加 0.5 体积的 100% 乙醇，漩涡混匀。立刻将混合物（每次小于 700µl，多可以分两次加入）加入一个吸附柱 RA 中，（吸附柱放入收集管中）13,000 rpm 离心 60 秒，弃掉废液。
6. 加 350µl 漂洗液 MW1，室温放置 30 秒，12,000rpm 离心 1 分钟，弃掉废液。
7. 对于每个 RNA 结合柱，准备 DNA 酶 I 消化反应混合物如下：

Buffer	Volume per Prep	10 Preps
DNase 缓冲液	45 µl	450 µl
RNase-free DNase I	5 µl	50 µl
Total volume	50 µl	500 µl

注意事项：DNA 酶非常敏感，易发生物理变性。不要漩涡混合 DNA 酶 I，应轻轻颠倒混匀。在 RNA 分离前准备新鲜的 DNase I 原液。使用其他缓冲液可能会影响 RNA 的结合于基质，并且可能减少 RNA 产量和纯度，所有步骤必须在室温下进行。

8. 吸取 50 µl RNase free DNase I 至 RNA 结合柱的中心部位消化，室温放置 15 分钟。
9. 加入 350 µl 漂洗液 MW1，13,000rpm 离心 1 分钟，弃掉废液。
10. 加入 500µl 漂洗液 MW2/3，13,000rpm 离心 1 分钟，弃掉废液。
11. 将吸附柱 RA 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。
12. 取出吸附柱 RA，放入一个 RNase free 离心管中，根据预期 RNA 产量在吸附膜的中间部位加 30-50µl RNase free water（事先在 70-90°C 水浴中加热效果更好），室温放置 2 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟。如果需要较多 RNA，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，离心 1 分钟，或者另外再加 30µl RNase free water，离心 1 分钟，合并两次洗脱液。