

版本号: ES250522

Magnetic EV/Tissue/Plasma miRNA Kit

磁珠法外泌体/组织/血浆miRNA提取试剂盒

目录号: ES301

产品内容

产品组成	ES301-02 (24 preps)	ES301-03 (96 preps)
组织消化液GHA (Buffer GHA)	1.5 ml	6 ml
裂解液GHH-A (Buffer GHH-A)	5.5 ml	22 ml
缓冲液ZP (Buffer ZP)	1.5 ml	5 ml
缓冲液RDH (Buffer RDH)	15 ml	60 ml
漂洗液RWA (Buffer RWA)	8 ml	32 ml
蛋白酶K (Proteinase K)	500 μ l	2 $\times$ 1 ml
核酸保护剂ST (Buffer ST)	750 μ l	3 $\times$ 1 ml
磁珠悬浮液BEJ (MagAttract Suspension BEJ)	500 μ l	2 $\times$ 1 ml
无RNA酶双蒸水 (RNase-Free ddH ₂ O)	15 ml	15 ml

储存条件

该试剂盒所有组分置于室温（15-30℃）干燥条件下，可保存15个月。

产品简介

本试剂盒采用具有独特分离作用的磁珠和独特的缓冲液系统，从组织、血清/血浆和外泌体样本中分离纯化高质量miRNA。独特包埋的磁珠，在一定条件下对核酸具有很强的亲和力，而当条件改变时，磁珠释放吸附的核酸，能够达到快速分离纯化核酸的目的。

本产品可与Kingfisher Flex96、TGuide S32、TGuide S16等自动核酸提取仪契合，通过特制的磁棒吸附、转移和释放磁珠，从而实现磁珠和核酸的转移，提高了自动化程度。整个实验过程安全、便捷，提取的miRNA纯度高，避免蛋白质和其它杂质的污染。如果需要高通量自动化提取，天根公司可以提供整合方案。

产品特点

1. 本试剂盒既可满足手工提取也可适用于多种高通量平台批量提取。
2. 本试剂盒所得产物满足下游各类检测实验以及NGS分析。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 客户需自备以下试剂及仪器：无水乙醇、自动核酸提取仪或磁力架。
2. 使用前请先在缓冲液RDH和漂洗液RWA中加入无水乙醇，加入体积参照瓶上的标签。

操作步骤

A. 手工操作步骤

一、样本前处理

1. 组织样本
 - a. 取新鲜或-80℃冻存的组织，液氮充分研磨成粉末状，称取15 mg至装有100 μl组织消化液GHA、125 μl裂解液GHH-A和30 μl核酸保护剂ST的管里，立刻混匀至匀浆状或取15 mg新鲜或-80℃冻存的组织加入上述缓冲液后，电动匀浆。之后加入20 μl蛋白酶K，立即涡旋混匀，室温静置3 min。
 - b. 加入40 μl缓冲液ZP，立即颠倒混匀20 sec，室温静置3 min。12,000 rpm (~13,400×g)，离心3 min，小心吸取上清到新的离心管中。
注意：吸取上清时不要碰到沉淀。
 - c. 向步骤b上清中加入适量外参（如有需要，推荐使用TIANGEN，目录号：CR100-01，miRNA检测外参），220 μl无水乙醇（客户自备），15 μl磁珠悬浮液BEJ，室温（15-30℃）涡旋混匀5 min，使磁珠吸附miRNA。立即进行“二、磁珠纯化和洗脱步骤”。

2. 血清/血浆、外泌体样本

- a. 取100-200 μl血清/血浆或外泌体样本到离心管中，加入50 μl组织消化液GHA，200 μl裂解液GHH-A，20 μl蛋白酶K和30 μl核酸保护剂ST，涡旋混匀（推荐使

用TIANGEN，目录号：OSE-VX-02，T Gyrate Master涡旋混匀仪，搭配OSE-VX-M131），室温静置3 min。

- b. 加入40 μ l缓冲液ZP，立即颠倒混匀20 sec，室温（15-30 $^{\circ}$ C）静置3 min，12,000 rpm（~13,400 $\times$ g）离心3 min，小心转移上清到新的离心管中。
- c. 向步骤b上清中加入适量外参（如有需要，推荐使用TIANGEN，目录号：CR100-01，miRNA检测外参），380 μ l无水乙醇，15 μ l磁珠悬浮液BEJ，室温（15-30 $^{\circ}$ C）涡旋混匀5 min，使磁珠吸附miRNA。立即进行“二、磁珠纯化和洗脱步骤”。

二、磁珠纯化和洗脱步骤

- 1. 短暂离心将残余溶液收集至管底，将离心管置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸出液体弃去。
- 2. 将离心管从磁力架上取下，加入900 μ l缓冲液RDH（使用前检查是否加入无水乙醇），涡旋混匀1 min。
- 3. 短暂离心将残余溶液收集至管底，将离心管置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸出液体弃去。
- 4. 重复步骤2和3一次。
- 5. 将离心管从磁力架上取下，加入750 μ l漂洗液RWA（使用前检查是否加入无水乙醇），涡旋混匀1 min。
- 6. 短暂离心将残余溶液收集至管底，将离心管置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸出液体弃去。
- 7. 重复步骤5和6一次。
- 8. 短暂离心将残余溶液收集至管底，将离心管置于磁力架上，吸出所有液体弃去，室温（15-30 $^{\circ}$ C）晾干5 min。

注意：磁珠开盖晾干时，避免出现磁珠干裂的过分干燥的情况，此时洗脱效率会降低。

- 9. 将离心管从磁力架上取下，加入50-100 μ l无RNA酶双蒸水（洗脱体积最少不低于50 μ l），56 $^{\circ}$ C混匀5 min，期间轻弹管壁4-5次以充分洗脱miRNA（或置于TGrade Bath Shaker恒温振荡金属浴，OSE-DB-03上洗脱）。
- 10. 将离心管放置于磁力架上静置1 min，磁珠完全吸附后，小心将miRNA溶液转移至干净的离心管，继续后续实验或保存于-80 $^{\circ}$ C。

以样本体积800 μ l为例放大实验体系。

试剂 (μ l)	Buffer GHA	Buffer GHH-A	Proteinase K	Buffer ST	Buffer ZP	无水 乙醇	Mag BEJ	Buffer RDH	Buffer RWA	RNase- Free ddH ₂ O
200 μ l样本体积	50	200	20	30	40	380	15	900	750	50-100
800 μ l样本体积	200	800	80	120	160	1520	50	3600	3000	50-100



TIANGEN官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

B. 自动化流程（以TGuide S16自动化核酸提取仪为例）

1. 手工前处理后，按照下列表格进行分液，将前处理的样本加入列1/7中。

列1/7	列2/8	列3/9	列4/10	列5/11	列6/12
380 μ l 无水乙醇	900 μ l Buffer RDH 15 μ l MagAttract Suspension BEJ	900 μ l Buffer RDH	750 μ l Buffer RWA	50-100 μ l RNase-Free ddH ₂ O	750 μ l Buffer RWA

2. 运行自动化程序。

步骤	槽位	名称	混合时间 (min)	混合速度	晾干时间 (min)	体积 (μ l)	温度 ($^{\circ}$ C)	磁吸 段数	每段磁 收时间 (s)	液面磁 吸时间 (s)	循环 次数	磁吸 速度 (mm/s)
1	1	裂解	1	7	-	850	-	1	-	-	1	2.5
2	2	移磁珠	0.5	5	-	915	-	5	4	-	2	2.5
3	1	结合	5	5	-	865	-	3	30	10	2	2.5
4	2	漂洗1	3	6	-	915	-	2	20	-	3	2.5
5	3	漂洗2	3	6	-	915	-	2	20	-	3	2.5
6	4	漂洗3	3	6	-	765	-	2	20	-	3	2.5
7	6	漂洗4	3	6	5	765	-	2	20	-	3	2.5
8	5	洗脱	5	7	-	100	56	3	30	10	2	2.5
9	6	弃磁珠	1	7	-	765	-	1	-	-	1	2.5

3. 提取完成后，将5/11列中的miRNA溶液，吸出置于-80 $^{\circ}$ C保存。



扫码了解“TIANGEN外泌体分离-提取-qPCR解决方案”