



Animal miRNA Isolation Kit

For purification miRNA(20-200nt) from animal cells, animal tissues

Animal tissues $\leq 30\text{mg}$

Animal cells $\leq 5 \times 10^6$

Research use only.

Store at room temperature(15-25°C)



目 录

产品介绍	4
产品特点	4
试剂盒应用	5
miRNA 的应用	5
RNA 的储存	5
产品质量控制	5
试剂盒内容	6
产品信息	6
储存条件	6
试剂盒组分信息	7
注意事项	7
RNA-only Column 特性	8
DNA-Cleaning Column 特性	8
RNA 提取得率与纯度	9
RNA 完整性	9
操作前准备事项	10
实验材料和设备	10
自备试剂	10
安全性	10
操作指南	11
样本的选择及保持	11
样本在 Buffer miRL 中保存	11
样本初始用量	11
组织破碎	12
材料取用说明	12
预防样本间交叉污染	12
预防 RNase 污染	12
基因组 DNA 污染及清除	13
● 动物组织 miRNA 提取操作步骤	14
RNA 浓度及纯度检测	16

DNA 污染及检测	16
长片段 RNA 污染及检测	16
快速操作示意图	17
问题分析指南	18

产品介绍

该试剂盒采用本公司研制的离心柱和配方，可以从各种动物组织和细胞中高效率的提取得到长度为 20-200nt miRNA, siRNA, snRNA 等小片段 RNA。试剂盒提供 DNA-Cleaning Column 能轻松的让上清液和组织裂解物分离，去除样品中的 DNA、长片段 RNA，操作简便、省时； RNA-only Column 能高效的结合 RNA，搭配独特的配方，可以同时处理大量样品。

全体系 RNase-Free，使得纯化得到的 miRNA 无降解； Buffer miRW1、Buffer miRW2 缓冲液洗涤体系，使得获得的 RNA 无蛋白、无 DNA、无离子、无有机化合物污染。

产品特点

- ◆ 整套试剂盒 RNase-Free，无需担心 RNA 降解。
- ◆ RNA 得率高：RNA-only Column 和独特配方搭配能高效的纯化 RNA。
- ◆ 速度快：操作简便，可在 30 分钟内完成。
- ◆ 安全：无需有机试剂抽提。
- ◆ 质量高：提取得到的 RNA 片段纯度高，没有蛋白和其他杂质污染，能够满足下游各种实验应用。

试剂盒应用

适用于多种新鲜或冻存的动物组织 miRNA 提取纯化。

miRNA 的应用

动物组织 miRNA 提取试剂盒纯化得到的 miRNA 可用于各种下游分子实验，例如：RT-PCR、Real Time PCR、Northern Blot、芯片分析、分子克隆等。

RNA 的储存

建议使用 RNase-Free ddH₂O 洗脱 RNA，纯化的 RNA 即时用于下游实验或储存于-20°C 或-70°C。在以上存储条件下，RNA 可保存一年。

产品质量控制

按照福际生物试剂盒质量检测体系标准(FOREGENE's Total Quality Management System)，每一批次的动物组织 miRNA 提取试剂盒都严格进行多次测试，确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

试剂盒内容

Animal miRNA Isolation Kit 动物 miRNA 提取试剂盒				
试剂盒组成	RE-0101T	RE-01011	RE-01012	RE-01013
	5 次	50 次	100 次	250 次
Buffer miRL*	3ml	30ml	60ml	150ml
Buffer miRW1	2ml	20ml	40ml	100ml
Buffer miRW2	2.4ml	24ml	48ml	120ml
RNase-Free ddH ₂ O	1.7ml	10ml	20ml	50ml
RNA-only Column	5 个	50 个	100 个	250 个
DNA-Cleaning Column	5 个	50 个	100 个	250 个
收集管	10 个	100 个	200 个	500 个
说明书	1 份	1 份	1 份	1 份

*: Buffer miRL中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	~30min (24 个样品)
离心机	台式离心机	组织裂解物分离	离心分离
纯化柱 RNA 承载量	20µg	离心柱液体盛装量	750µl
洗脱体积	30-50µl	组织样本处理量	Tissues≤30mg; Cells≤5×10 ⁶

储存条件

本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下，可保存 12 个月；如需保存更长时间可置于 2–8°C。Buffer miRL 在加入 β-巯基乙醇后可在 4°C 放置 1 个月（建议现做现添加）。

试剂盒组分信息

- ◆ Buffer miRL: 提供动物组织研磨裂解所需的环境以及过柱环境。
- ◆ Buffer miRW1: 去除 RNA 中的蛋白质、DNA 等杂质。
- ◆ Buffer miRW2: 去除 RNA 中残留的盐离子。
- ◆ RNase-Free ddH₂O: 洗脱纯化柱膜上的总 RNA。
- ◆ DNA-Cleaning Column: 特异吸附组织裂解产物中的 DNA 及长片段 RNA, 并过滤除去裂解产物中的固体杂质。
- ◆ RNA-only Column: 特异吸附小片段 RNA。

注意事项 : (请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ◆ 样品应避免反复冻融, 否则会导致提取的 miRNA 降解且提取量也会下降。
- ◆ 新鲜组织的用量不要超过 30mg, 否则会影响 miRNA 产量和纯度。
- ◆ 试剂盒使用前, 请在 Buffer miRW1 中添加 100% 的无水乙醇, 加入量请参照试剂瓶上标签。不同规格的试剂盒无水乙醇的添加量见下表:

产品规格	100%无水乙醇添加量
RE-0101T	2ml
RE-01011	20ml
RE-01012	40ml
RE-01013	100ml

- ◆ 试剂盒使用前, 请在 Buffer miRW2 中添加 100% 的无水乙醇, 加入量请参照试剂瓶上标签。不同规格的试剂盒无水乙醇的添加量见下表:

产品规格	100%无水乙醇添加量
RE-0101T	6ml
RE-01011	60ml
RE-01012	120ml
RE-01013	300ml

- ◆ RNA 产率和质量与洗脱体积和组织样本用量有关，建议每 500 μ l Buffer miRL 使用组织量 30mg。
- ◆ 洗脱体积：洗脱液体积不应少于 30 μ l，否则会影响 RNA 回收效率。
- ◆ 所有实验步骤若非特别指出，均在常温（15-25 $^{\circ}$ C）进行。
- ◆ 请检查试剂盒中的 Buffer miRL 是否有晶体析出现象，若低温存放后有晶体析出，可将 Buffer 放置于室温或 37 $^{\circ}$ C 一段时间，将晶体溶解后混匀再使用。

RNA-Only Column 特性

RNA最大结合能力(Maximum binding capacity)	20 μ g
上清最大载量体积(Maximum loading volume)	750 μ l
RNA片段大小分布(RNA size distribution)	20nt \leq RNA \leq 200nt
最小洗脱体积(Minimum elution volume) ^{1*}	30 μ l
最佳样本选取(Selection of samples)	动物组织或动物细胞
样本最大初始量(Maximum amount of starting material) ^{2*}	30mg

1*：30 μ l 的最小洗脱体系是在兼顾 RNA 回收率及浓度给出的比较合理的建议体积。如果为了提高 RNA 的产量，可以适当增加洗脱液体积；如果为了提高纯化得到的 RNA 浓度，在牺牲一部分 RNA 得率的前提下，适当的减少洗脱液体积，比如采用 15 μ l 的洗脱体系，以期得到更高浓度的 RNA。

2*：更大的样本量，请使用多个 RNA-Only Column 进行 RNA 纯化。

DNA-Cleaning Column 特性

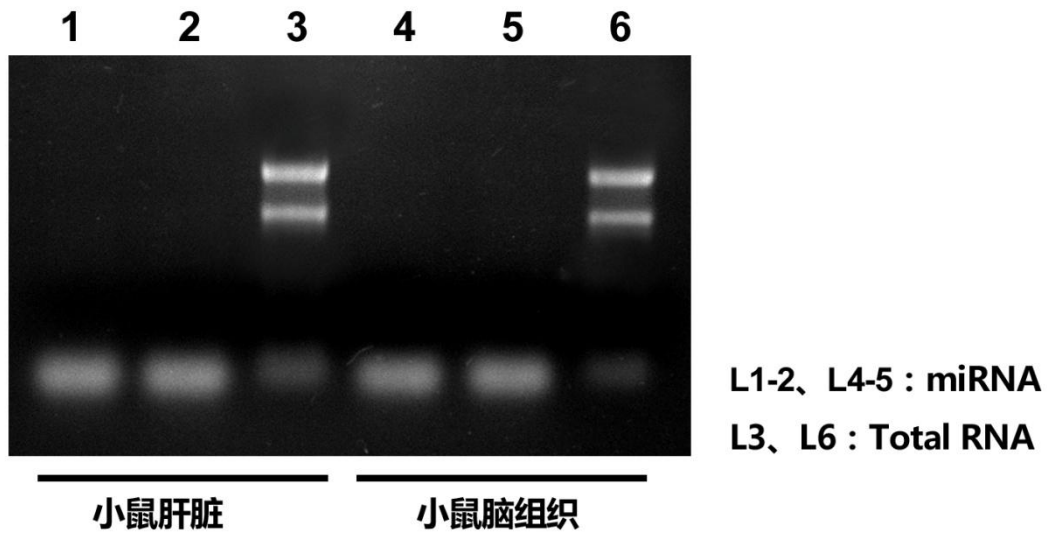
原理(Mechanism)	特异吸附DNA、200nt以上长片段RNA
功能(Function)	去除DNA、长片段RNA污染，过滤分离裂解物
裂解物最大载量体积(Maximum loading volume)	750 μ l

RNA 提取得率与纯度

使用动物组织 miRNA 提取试剂盒可以从多种组织和细胞中纯化得到的 RNA，其产量与组织样本本身、样本初始量、样本新鲜程度、样本保存时间以及操作相关。纯化得到的 RNA，其 OD260/280 \approx 1.8-2.1。

RNA 完整性

下图为福际生物 Animal miRNA Isolation Kit 处理动物组织样本，获得的 RNA 电泳图。



Foregene Animal miRNA Isolation Kit和Animal Total RNA Isolation Kit 分别处理30mg新鲜小鼠肝脏、脑组织，取10%纯化RNA 1%琼脂糖凝胶电泳。

操作前准备事项

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读说明书。动物组织 miRNA 提取试剂盒操作简单、方便、快速，说明书提供了整个试剂盒的正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

实验材料和设备

- ◆ 30mg 新鲜动物组织、 $2-5 \times 10^6$ 个培养动物细胞
- ◆ 玻璃匀浆器或电动匀浆器。
- ◆ 台式离心机 ($\geq 13,400 \times g$)、移液器等。
- ◆ 无菌 RNase-Free 离心管、枪头等。
- ◆ 一次性乳胶手套。

自备试剂

- ◆ 100%无水乙醇。
- ◆ β -巯基乙醇(β -ME)。

安全性

- ◆ 本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床医疗、食品及化妆品等用途。
- ◆ 在使用该试剂盒时，请穿戴实验服、一次性乳胶手套、一次性口罩等以保护自身；并最大程度上避免人为引入的 RNase 污染。
- ◆ Buffer miRL 含有离液盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer miRW1 含有乙醇：易燃。
- ◆ Buffer miRW2 含有乙醇：易燃。

操作指南

请根据自己的样本材料选择相应的裂解方式进行组织裂解操作。

样本的选取和保存

样本的选择及保存很大程度上决定着 RNA 的产量。应尽可能的采用新鲜组织进行 RNA 提取（RNA 含量高的组织，如肝脏不能超过 30mg）。当样本采集之后，RNA 很快会发生降解；如果采集的样本来不及提取 RNA，请尽快妥善保存。我们建议新采集的样本应立即放入液氮中速冻，之后长期保存于-70°C并避免样本的反复冻融；或者将样本立即浸泡在 RNA 稳定剂 *RNAlater* 溶液(FOREGENE)中。为了避免 RNA 的降解，样本的采集与保存应尽可能迅速的进行。

样本在 Buffer miRL 中保存

RNA 在 Buffer miRL 不会受到 RNase 的降解，如果组织或细胞在加入 Buffer miRL 裂解后如不即时使用，在室温条件下可保存约 24h，在 4°C 中保存约 1 周，更长时间保存请存放于-70°C，使用时将溶液在室温或 37°C 溶解即可。

样本初始用量

正确的样本的初始取用量对于 RNA 的最佳产量及纯度十分必要，样本的最大取用量与下面因素相关：

1. 样本本身的类型以及样本 RNA 的丰度；
2. Buffer miRL 的用量决定了样本的有效裂解；
3. RNA-Only Column 的 RNA 结合能力。

根据上述因素，我们推荐样本的初始用量不宜超过 30mg。如果样本用量过多，Buffer miRL 对于组织裂解不完全，导致纯化获得的 RNA 纯度不高；同时可能会超过 RNA-Only Column 的最大承载量而浪费珍贵样本。

组织破碎

有效的破碎细胞和使细胞破碎物在 Buffer miRL 均一的分布是提取 miRNA 必要的步骤。

- ◆ 样本破碎：有效的释放组织里面含有的 RNA 要求完全破碎组织细胞膜、细胞器。不同的样本要求不同的方式进行样本的完全破碎，不完全的细胞的破碎降低纯化 RNA 的得率。
- ◆ 均一化：破碎后的样本要求在 Buffer miRL 溶液中均一的分布，提供高效的 DNA 及 RNA 的上柱效率，以更大程度的去除基因组 DNA 污染和提高 RNA 的产量。一般在样本破碎的同时进行样本的均一化。

材料取用说明

- ◆ 动物组织：单次处理，用量请勿超过 30mg。
- ◆ 培养细胞：单次处理，用量请勿超过 5×10^6 。

预防样本间交叉污染

为了避免样本间交叉污染，每次取样后都需要将取样器材的刃口或与样本直接接触的部位浸入 2%次氯酸钠溶液中，反复洗刷数次进行清洗，然后用干净的纸巾擦干残余液体后再进行使用。为了试验方便，也可准备多个取样器材，在使用完后进行统一清洗，确保每一单独样本均使用的是无污染的取样器材。

预防 RNase 污染

- ◆ 人体接触是重要的 RNase 污染源，且部分试剂中可能带有刺激性气味，请在操作过程中经常更换手套，并佩戴一次性口罩。
- ◆ 请使用无 RNase 的枪头和其他塑料制品。
- ◆ RNA 在 Buffer miRL 中时不会被 RNase 降解，但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4 小时，塑料制品可在 0.5M NaOH 中浸泡 10 分钟，然后用水彻底清洗，高压灭菌，即可去除 RNase。

- ◆ 配制溶液应使用无 RNase 的水（将水加入处理过不含 RNase 的玻璃瓶中，加入 DEPC 至终浓度 0.01% (v/v)，混匀后放置过夜，高压灭菌）。

基因组 DNA 污染及清除

动物组织 miRNA 提取试剂盒主要是为了从各种组织和细胞中获得长度为 20-200nt 小片段 RNA，并且有独特的 DNA-Cleaning Column 可有效的除去体系中 DNA 污染，纯化获得的 RNA 通常无需使用 DNase 处理即可有用于下游操作。某些 RNA 分析实验对痕量 DNA 十分敏感，比如：荧光定量 RT-PCR 分析低丰度基因。这时可以选用合适的 DNase 进一步清除 DNA 污染。

操作步骤

使用前请先在 **Buffer miRW1** 和 **Buffer miRW2** 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取 225 μ l 无水乙醇于 2ml RNase-Free 离心管中，待用。
2. 根据组织来源按以下说明进行组织或细胞裂解。

1a 动物组织：

匀浆处理：取新鲜组织 30mg 加入 500 μ l Buffer miRL（使用前请确认已按照说明加入终浓度 1% β -巯基乙醇，需自备），用玻璃匀浆器或电动匀浆器将组织研磨均匀。

注意：组织量不要超过 30mg，否则会导致 RNA 的质量下降。如果组织超过 30mg，请根据(500 μ l Buffer miRL)/(30mg 组织)的量按比例加入 Buffer miRL。匀浆时请确认组织完全破碎及分布均一，否则会降低 RNA 的得率。

1b 培养细胞：

1) 贴壁细胞：无须消化，可直接用 Buffer miRL（使用前请确认已按照说明加入终浓度 1% β -巯基乙醇（需自备））进行消化、裂解；或者离心收集细胞后加入 Buffer miRL，2-5 $\times 10^6$ 个细胞加入 500 μ l Buffer miRL，使用移液器反复吹打混匀（直到看不到细胞团为止）。

2) 悬浮细胞：直接离心收集细胞，加入 Buffer miRL（使用前请确认已按照说明加入 β -巯基乙醇（需自备）），2-5 $\times 10^6$ 个细胞加入 500 μ l Buffer miRL，用移液器反复吹打混匀（直到看不到细胞团为止）。

注意：请确保细胞在 Buffer miRL 中完全破碎并分布均一。RNA 在 Buffer miRL 不会受到 RNase 的降解，如果组织或细胞在加入 Buffer miRL 裂解后不即时使用，在室温条件下可保存约 24h，在 4 $^{\circ}$ C 中保存约 1 周，更长时间保存请存放于 -70 $^{\circ}$ C，使用时将溶液在室温或 37 $^{\circ}$ C 溶解即可。

3. 将研磨均匀的 500 μ l 匀浆液转移至上述盛有 225 μ l 无水乙醇的 2ml 的 RNase-Free 离心管中，轻柔混匀。

注意：若组织使用量大于 30mg、组织研磨后块状碎片太多、或者组织中纤维较多，如：肺组织等，先将匀浆液转移至干净离心管中，12,000rpm (~13,400 \times g) 离心 5min，再将上清液转移至盛有无水乙醇离心管中，进行步骤 3 操作。

4. 将步骤 3 中所有的混合液转移至 DNA-Cleaning Column 中（DNA-Cleaning Column 放入收集管中），13,300rpm (~17,000 \times g) 离心 10min。移除过滤柱，保留收集管内上清液。

注意：如果 DNA-Cleaning Column 收集管底部有沉淀产生，请将上清液转移至干净离心管中再进行步骤 5，切勿将其吸入上清液中。

5. 向上述上清液（体积应约为 725 μ l）中加入 75%乙醇 675 μ l，轻柔混匀。

注意：配制 75%乙醇时请使用 RNase-Free ddH₂O，75%乙醇加入量请按照实际操作过程中上清液的体积进行比例换算加入。例如：725 μ l 上清液中加入 675 μ l 75%乙醇。混合液可能出现浑浊或絮状沉淀，请直接进行步骤 6 即可。

6. 将 700 μ l 混合液转移至 RNA-only Column 中(RNA-only Column 放入收集管中)，12,000rpm (~13,400 \times g)离心 1min，弃掉收集管中的废液。

注意：如果混合液中出现絮状沉淀，请将沉淀一并转移至 RNA-only Column 中。如果混合液大于 700 μ l，请分两次或多次转移通过 RNA-only Column，以完全收集混合液中的 RNA，提高得率。

7. 将 RNA-only Column 放回收集管中，将剩余混合液全部加入 RNA-only Column 中，12,000rpm(~13,400 \times g)离心 1min，弃掉收集管中的废液。
8. 向 RNA-only Column 中加入 700 μ l Buffer miRW1（使用前请确认已按照说明加入无水乙醇），12,000rpm (~13,400 \times g)离心 1min，弃掉收集管中的废液。
9. 向 RNA-only Column 中加入 700 μ l Buffer miRW2（使用前请确认已按照说明加入无水乙醇），12,000rpm (~13,400 \times g)离心 1min，弃掉收集管中的废液。
10. 重复步骤 9。
11. 将 RNA-only Column 放回收集管中，12,000 rpm (~13,400 \times g)空管离心 2min，弃掉收集管。
12. 将 RNA-only Column 转移至新的离心管中，向 RNA-only Column 的膜中央滴加 30-50 μ l 已于 65 $^{\circ}$ C 预热的 RNase-Free ddH₂O，室温放置 2min。12,000rpm (~13,400 \times g)离心 1min 收集 RNA 溶液。

注意：RNase-Free ddH₂O 加入体积不应低于 30 μ l，体积过小会影响洗脱效率。为提高 RNA 产量，可将离心得到的 RNA 溶液重新加至 RNA-only Column 中，重复步骤 12。得到的 RNA 溶液可直接用于下游实验或置于-70 $^{\circ}$ C 保存。

RNA 浓度及纯度检测

得到的 RNA 的质量与操作过程中的多种因素有关。对于组织等样本来说，使用本试剂盒提取的 miRNA 产物电泳检测会出现明亮的条带，但产物中更多的是 5S rRNA、5.8S rRNA 和 tRNA，因此使用紫外分光光度计检测此溶液的吸光值并不能真正代表产物中 miRNA 的含量，可以使用定量 RT-PCR，或者灵敏度更高的荧光定量检测。由于本试剂盒对 RNA 二级结构保护较好，建议凝胶电泳之前，先将得到的 RNA 溶液置于 72°C 变性处理 5-10min。

RNA 的 OD_{260}/OD_{280} 比值通常用作核酸纯度的衡量指标，一般情况下，纯 RNA 的 OD_{260}/OD_{280} 比值在 1.8-2.1。 OD_{260}/OD_{280} 比值会受测定所用溶液的 pH 值的影响，例如，纯化 RNA 在 pH 7.5 的 10mM Tris-HCl 缓冲液中 OD_{260}/OD_{280} 读数在 1.9-2.1 之间，而在中性的水溶液中比值会变低，可能只有 1.8-2.0，这并不意味着 RNA 的质量变差。

DNA 污染及检测

目前没有有效的纯化方法能保证纯化得到的 RNA 中完全没有 DNA 的污染，即便在凝胶电泳时检测不到 DNA 条带，也可能存在微量的 DNA。miRNA 提取试剂盒能除去 RNA 中的绝大部分 DNA，然而微量的 DNA 依然可能存在于样品中，它的存在量与样本的用量及其本身性质有关。

对于纯化得到的 RNA 中的微量 DNA 的检测，可以通过不经逆转录进行实时荧光定量 PCR 检测。我们建议，可以设计引物，其退火匹配区域位于基因组 DNA 的内含子中。如果 RNA 中不含有任何基因组 DNA，基于这对引物的 PCR 是不会扩增出相应的 PCR 产物。

长片段 RNA 污染及检测

目前没有有效的纯化方法能保证纯化得到的 RNA 中完全没有长片段 RNA ($\geq 200nt$) 的污染，即便在凝胶电泳时检测不到总 RNA 条带，也可能存在微量的长片段 RNA。miRNA 提取试剂盒能除去 RNA 中的绝大部分长片段 RNA，然而微量的长片段 RNA 依然可能存在于样品中，它的存在量与样本的用量及其本身性质有关。

快速操作示意图



问题分析指南

以下针对动物组织 miRNA 提取中可能遇到的问题进行分析，希望能对您的实验有所帮助。另外，对于在操作说明和问题分析以外的其他实验或技术上的问题，我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们：028-66070618 或 E-mail:

Tech@foregene.com。

提取不到 RNA 或者 RNA 产量低

通常会有多种因素影响回收效率，比如：样本 RNA 含量、操作方法、洗脱体积等。

常见原因分析：

1. 样本保存不当或样本保存时间过久。

建议：样本保存于 -70°C 或冻存于液氮中，并避免反复冻融使用；尽量采用新鲜组织样品进行 RNA 提取操作。

2. 样本裂解不充分。

建议：在组织匀浆时，请保证组织充分匀浆。

3. 洗脱液添加不正确。

建议：确认 RNase-Free ddH₂O 滴加到了纯化柱膜中间位置。

4. Buffer miRW1 或 Buffer miRW2 中没有添加正确体积的无水乙醇。

建议：请按照说明书，在试剂盒使用前，Buffer miRW1 和 Buffer miRW2 中添加正确体积的无水乙醇并混匀。

5. 组织样本用量不合适。

建议：每 500 μl Buffer miRL 使用组织量 30mg，组织使用过多会导致 RNA 提取量降低。

6. 洗脱体积不合适或洗脱不彻底。

建议：纯化柱的洗脱液体积为 30-50 μl ；若洗脱效果并不理想，建议在加入预热的 RNase-Free ddH₂O 后，延长室温放置的时间，例如放置 5-10min。

7. 纯化柱在 Buffer miRW2 洗涤之后有乙醇残留。

建议：如果在 Buffer miRW2 洗涤，空管离心 1min 后还有乙醇残留，可以将空管离心操作的时间增加至 2min，或在空管离心后将纯化柱置于室温 5min，以充分除去残留乙醇。

纯化获得的 RNA 有降解

纯化得到的 RNA 的质量和样本的保存、RNase 污染、操作等因素有关。

常见原因分析：

1. 组织样本没有及时保存。

建议：组织样本在收集后若不及时使用，请立即低温保存于-70℃或者液氮中。提取 RNA 请尽量使用新近采取的组织样本。

2. 组织样本反复冻融。

建议：组织样本保存时，最好剪成小块保存，使用时取出其中一部分即可，避免样本的反复冻融导致 RNA 的降解。

3. 操作间有 RNase 引入或没有佩戴一次性手套、口罩等。

建议：RNA 提取实验最好在单独的 RNA 操作间进行，并在实验前清理好实验桌，实验时佩戴一次性手套、口罩，最大程度上避免 RNase 引入导致的 RNA 降解。

4. 试剂在使用过程中被 RNase 污染。

建议：更换新的 Animal miRNA Isolation Kit 进行相关实验。

5. RNA 操作时所用的离心管、枪头等有 RNase 污染。

建议：确认 RNA 提取时所用到的离心管、枪头、移液器等都是 RNase-Free。

纯化获得的 RNA 影响下游实验

经纯化柱纯化的 RNA，如果盐离子、蛋白质含量过多会影响下游实验，比如：逆转录、Northern Blot 等。

1. 洗脱后的 RNA 有盐离子残留。

建议：确认 Buffer miRW2 中添加了正确体积的无水乙醇，并按操作说明的离心转速进行 2 次纯化柱洗涤；如果还有盐离子残留，可在纯化柱加入 Buffer miRW2 后，室温放置 5min，再进行离心操作，以最大程度上去除盐离子污染。

2. 洗脱后的 RNA 有乙醇残留。

建议：确认 Buffer miRW2 洗涤后，按操作说明的离心转速进行空管离心操作；如果还有乙醇残留，可以将空管离心操作的时间增加至 2min，或者在空管离心后在室温放置 5min，以最大程度上去除乙醇残留。

中国·福际 World's Foregene

成都福际生物技术有限公司

电话: 028-83360257, 028-83361257

传真: 028-83361257

E-mail: info@foregene.com

[Http://www.foregene.com](http://www.foregene.com)

