

Version: AC 6.0 (2024.02.22修订)

# SPARKeasy stool RNA Kit

## 粪便RNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AC0701

### 01/产品组分

序号	组分	10 次 AC0701
1	RNA 吸附柱	10 个
2	2 mL 收集管	30 个
3	缓冲液 RPL	24 mL
4	缓冲液 RB	10 mL
5	玻璃珠	1.2 g×2
6	漂洗缓冲液 RWC	10 mL
7	漂洗缓冲液 RWB	4 mL 第一次使用前加入 16 mL 无水乙醇
8	DEPC 水	4 mL
9	RNase-Free 收集管(1.5 mL)	50 个

### 02/保存条件

本试剂盒所有组分室温（15-25°C）保存。

### 03/产品概述

本试剂盒可以快速可靠地从新鲜和冷冻粪便样品中提取高质量总 RNA。多至 200 mg 的粪便样本可以在 60 min 内完成提取。本试剂盒具有核酸结合的快速可逆特性以及吸附柱技术的广范适应性，从粪便样品中清除腐殖酸、多糖、酚类化合物和酶抑制剂等杂质。纯化的 RNA 可适用于 RT-PCR 和 Northern 印迹等实验。该产品提取的总 RNA 完整性好，无蛋白和基因组 DNA 污染。

### 04/自备材料

无水乙醇、水饱和苯酚、氯仿

## 05/注意事项

### 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 第一次使用前请先在洗涤缓冲液 RWB 瓶中加入指定量（16 mL）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！
- ◇ 注意全程要谨慎快速操作，以免 RNA 污染或者降解。

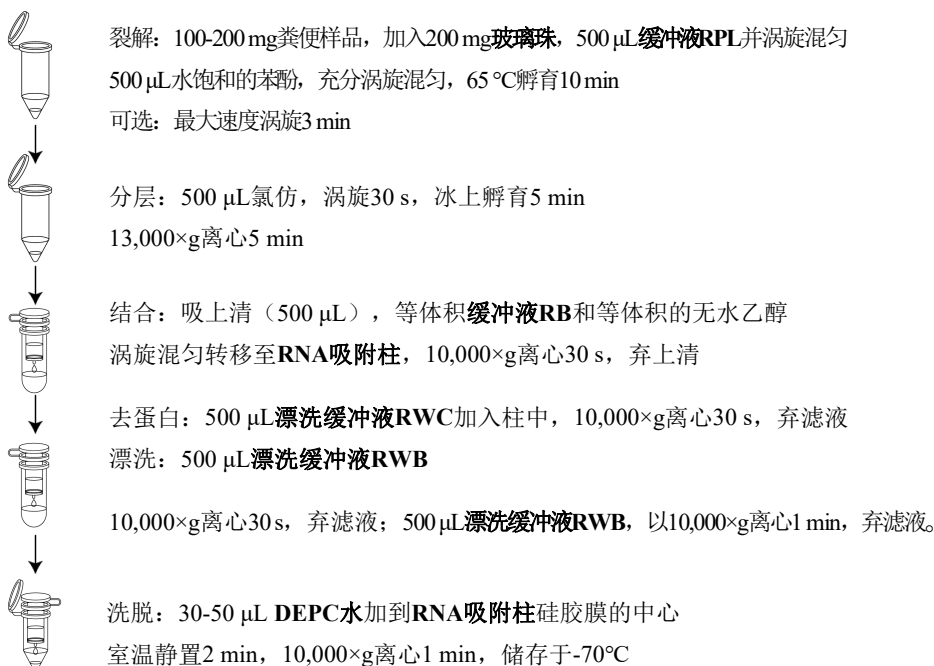
## 06/使用方案

1. 在含有 200 mg 玻璃珠的 2 mL 离心管中称重 100-200 mg 粪便样品，并将离心管置于冰上。
  - ▲如果样品是液体，将 200  $\mu$ L 样品吸入离心管，剪掉枪头末端，使移液更容易；如果样品是冷冻的，用刮刀将样品刮入管中，直到缓冲液 RPL 加入管中不要让样品解冻。
2. 加入 500  $\mu$ L 缓冲液 RPL 并涡旋混匀。
3. 加入 500  $\mu$ L 水饱和的苯酚，充分涡旋混匀，65°C 孵育 10 min。
4. 可选：为了从细菌中分离 RNA，以最大速度涡旋 3 min。
5. 加入 500  $\mu$ L 氯仿，涡旋 30 s 彻底混匀样品，将样品在冰上孵育 5 min。
6. 以全速（ $<13,000\times g$ ）离心 5 min，小心地将 500  $\mu$ L 上清液吸入新的 2 mL 离心管中，确保避开沉淀物或碎片。
7. 加入 500  $\mu$ L 缓冲液 RB 和 500  $\mu$ L 无水乙醇，涡旋混匀。
8. 将步骤 7 中的 750  $\mu$ L 样品加入 RNA 吸附柱上，在室温下全速（ $>10,000\times g$ ）离心 30 s，弃去滤液并重新使用收集管。
9. 重复步骤 8 以将剩余的样品加入柱中，如上所述离心并丢弃滤液和收集管。
10. 将 500  $\mu$ L 漂洗缓冲液 RWC 加入柱中。如上所述进行离心并丢弃滤液重复使用收集管。
11. 将吸附柱放入新的收集管中，将 500  $\mu$ L 漂洗缓冲液 RWB（用无水乙醇预稀释）加入柱中，以  $10,000\times g$  离心 30 s，弃去滤液并重新使用收集管。
  - ▲洗涤缓冲液 RWB 必须在使用前用无水乙醇稀释。
12. 向柱中加入另外 500  $\mu$ L 漂洗缓冲液 RWB，以  $10,000\times g$  离心 1 min，将滤液重新过滤并重新使用收集管。
13. 将 RNA 吸附柱置于相同的 2 mL 收集管中，全速（ $\geq 12,000\times g$ ）离心 2 min 以完全干燥膜。
14. RNA 的洗脱：将 RNA 吸附柱置于 1.5 mL 无 RNase 的离心管上，并将 30-50  $\mu$ L DEPC 水直接加到 RNA 吸附柱硅胶膜的中心。让吸附柱在室温下静置 2 min，并以  $10,000\times g$  离心 1 min 以洗脱 RNA。
  - ▲为了确定 RNA 的浓度和纯度，在分光光度计中测量 260 nm 和 280 nm 处的吸光度。1 OD 在 260 nm 处测量的单位对应于每毫升 44  $\mu$ g 的 RNA。如果需要稀释 RNA 样品，请使用中性 pH 值的缓冲液。纯核酸的  $A_{260}/A_{280}$  的比例为 2.0，而纯蛋白的比例约为 0.6。1.8-2.1 的比例相当于 90%-100% 纯核酸。（苯酚在 275 nm 处具有最大吸收能力，并且可以干扰 DNA 或 RNA 的分光光度分析。）将 RNA 样品溶于水保存在 -70°C 冰箱，可稳定保存一年以上。

### 粪便样品中病毒 RNA 的提取：

1. 将0.5 mL或0.5-1 g粪便于0.89 M NaCl（最多5 mL）中重悬，以4,000×g离心20 min澄清溶液，使用0.22 μm过滤器过滤上清液。
2. 将150 μL滤液转移到新的1.5 mL离心管中，加入500 μL缓冲液RB并涡旋混匀。
  - ▲记得在使用前每1 mL缓冲液RB加入20 μL β-巯基乙醇。如果样品体积大于150 μL，则按比例增加缓冲液RB的量。
  - ▲粪便、血浆、血清、尿液和其他体液通常只含有非常少量的细胞和病毒。在这种情况下，我们建议通过Ultra滤液将样品浓缩至最终体积200 μL。
3. 在室温下孵育5-10 min，简单离心以去掉盖上的液体。
4. 向样品中加入350 μL无水乙醇（室温，96-100%），以最大速度涡旋30 s彻底混合。
5. 将700 μL混合物（包括任何沉淀物）加入RNA吸附柱上，以10,000×g离心30 s，弃去滤液。
  - ▲RNA柱的最大容量为800 μL。
  - ▲在此过程中，注意要小心、快速地操作。
6. 重复步骤5，直到所有裂解物过滤完全。
7. 将吸附柱放入干净的2 mL收集管中，加入500 μL用无水乙醇稀释的漂洗缓冲液RWB。如上所述离心后弃去滤液。
  - ▲漂洗缓冲液RWB必须在使用前用无水乙醇稀释。
8. 将吸附柱置于新的2 mL收集管中，加入500 μL漂洗缓冲液RWB。如上所述离心并弃去滤液并重复使用收集管。
9. 将吸附柱放回收集管中，以全速（不超过14,000×g）离心空柱2 min，使基质完全干燥。
10. 将吸附柱转移到干净的1.5 mL离心管中，并将30-50 μL DEPC水直接加到柱基质上，让吸附柱在室温下孵育3-5 min，以10,000×g离心1 min以洗脱RNA，在-70°C下储存纯化的RNA。

## 07/流程简图



## 08/相关产品

- AA0701-A SPARKeasy粪便基因组DNA快速提取试剂盒
- AA0701-B SPARKeasy粪便基因组DNA快速提取试剂盒（含蛋白酶K）
- AG0304 SPARKscript II RT Plus Kit（With gDNA Eraser）
- AG0305 SPARKscript II All-in-one RT SuperMix for qPCR（With gDNA Eraser）
- AH0104 2×SYBR Green qPCR Mix（With ROX）

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: [support@sparkjade.com](mailto:support@sparkjade.com)

