

Version: AC 6.0 (2024.02.22修订)

# SPARKeasy Serum and Plasma microRNA Kit

## 血清血浆microRNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AC1505

### 01/产品组分

序号	组分	50 次 AC1505
1	Lysis buffer	50 mL
2	Wash Solution 1	12 mL 第一次使用前加入 28 mL 无水乙醇
3	Wash Solution 2/3	10 mL 第一次使用前加入 42 mL 无水乙醇
4	RNase Free H <sub>2</sub> O	10 mL
5	RNase Free 吸附柱 RA 和收集管	50 套
6	RNase-Free 收集管 (1.5 mL)	50 个

### 02/保存条件

Lysis buffer于4°C避光保存, 其他组分室温 (15-25°C) 保存。

### 03/产品概述

近年来对 RNA 干扰和调节性小 RNA 的广泛研究迫切需要一种能有效提取 15-30 核苷酸左右大小 RNA (包括 siRNA 和 miRNA) 的试剂盒。但传统的 RNA 提取方法如硅胶膜法不能有效吸附回收, 酚/胍抽提和异丙醇/乙醇沉淀并不能有效沉淀回收微小分子 RNA, 对于血清血浆样本更是难以提取。

本试剂盒采用独特的裂解液能迅速直接裂解血清血浆 RNA 酶, 强烈去除蛋白和 DNA, RNA 包括微小分子 RNA 在高浓度乙醇下吸附于离心柱内特殊硅基质膜上, 再通过一系列快速的去蛋白、漂洗的步骤将细胞代谢物、蛋白等杂质去除, 最后低盐的洗脱液将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。该产品可在 40 min 内完成样品 RNA 的提取, 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、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

- ◇ Wash Solution 2/3 加入无水乙醇使用几天后可能出现沉淀晶体，不影响使用，直接吸上清使用即可。
- ◇ 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。
- ◇ 第一次使用前请先在 Wash Solution 1 瓶和 Wash Solution 2/3 瓶中加入指定量无水乙醇，加入后请及时打钩标记，以免多次加入！
- ◇ Lysis buffer 和 Wash Solution 1 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，要用大量清水或生理盐水冲洗。
- ◇ 所有离心操作步骤，均可在室温（15-25°C）下进行。

## 06/使用方案

1. 每 250  $\mu\text{L}$  样品（血清，血浆）加入 750  $\mu\text{L}$  Lysis buffer，涡旋振荡或者用加样枪吹打液体样品混匀帮助裂解。
  - ▲ 对于含有高污染物的样品如高蛋白高脂样品，可以适当减少处理量，体积不足 250  $\mu\text{L}$  时，可以用 RNase Free  $\text{H}_2\text{O}$  补足。Lysis buffer 和液体样品的终体积比是 3:1。例如 200  $\mu\text{L}$  样品+50  $\mu\text{L}$  RNase Free  $\text{H}_2\text{O}$ +750  $\mu\text{L}$  Lysis buffer。
2. 将样品剧烈震荡混匀，在 15-30°C 条件下孵育 5 min。
3. 每 750  $\mu\text{L}$  Lysis buffer 加 200  $\mu\text{L}$  氯仿，剧烈振荡 15 s，室温放置 2 min。
4. 于 4°C 12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 10 min，样品会分成三层：下层有机相，中间层和上层无色的水相，RNA 存在于水相中。水相层的容量大约为所加 Lysis buffer 体积的 70%。
5. 小心取上清（精确计算体积）转入到新的离心管，加入 1.5 倍体积的无水乙醇（必须是室温的），涡旋混匀。此时可能出现沉淀，但是不影响提取过程，立即吹打混匀，不要离心，立刻接下一步。
6. 将混合物（每次小于 700  $\mu\text{L}$ ，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），12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 30-60 s，弃掉废液。
7. 加 700  $\mu\text{L}$  Wash Solution 1（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 30 s，弃废液。
8. 加入 500  $\mu\text{L}$  Wash Solution 2/3（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 30 s，弃废液。重复此步骤。
9. 将吸附柱 RA 放回空收集管中，12,500 rpm（14,500 $\times$ g）离心 2 min，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 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 30-40  $\mu\text{L}$  RNase Free  $\text{H}_2\text{O}$ （事先在 100°C 水浴中预热效果更好），室温放置 1 min，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 1 min。

▲使用第一次洗脱液重复洗脱两遍可以提高产量和浓度。如果需要提高浓度，洗脱体积最小可以低至 15  $\mu\text{L}$ ，但是使用小体积洗脱会降低一些产量。

## 07/流程简图



## 08/相关产品

AG0501 SPARKScript miRNA 1st strand cDNA synthesis kit(Tailing Reaction)

AG0502 SPARKScript II miRNA 1st strand cDNA synthesis kit(By stem-loop)

AH0104 2 $\times$ 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)

