

Version: AC 7.0 (2025.08.08修订)

SPARKeasy Fresh/Frozen whole blood total RNA Kit

新鲜/冻存全血总RNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AC0902

01/产品组分

序号	组分	50 次 AC0902
1	裂解液 RLS	50 mL
2	去蛋白液 RE	25 mL
3	漂洗液 RW	10 mL 第一次使用前加入 42 mL 无水乙醇
4	RNase Free H ₂ O	10 mL
5	70%乙醇	9 mL RNase Free H ₂ O 第一次使用前加入 21 mL 无水乙醇
6	RNase Free 吸附柱 RA 和收集管	50 套
7	RNase-Free 收集管(1.5 mL)	50 个

02/保存条件

裂解液RLS于4℃避光保存,其他组分室温(15-25℃)保存。

03/产品概述

该试剂盒基于改进的异硫氰酸胍/酚一步法裂解细胞和灭活 RNA 酶,然后总 RNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜,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 RNase Free H₂O 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。该产品可在 30 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

- ◇ 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶和 70%乙醇瓶中加入指定量无水乙醇,加入后请及时打钩标记已加入乙醇,以免多次加入!
- ◇ 裂解液 RLS 和去蛋白液 RE 中含有刺激性有害化合物,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,要用大量清水或者生理盐水冲洗。
- ◇ 所有离心操作步骤,均在室温(15-25℃)下进行。

06/使用方案

- 1. 每 0.25 mL 液体样品(血清、血浆、脑脊液等)加入 0.75 mL 裂解液 RLS,用加样枪吹打液体样品几次以帮助裂解样品中细胞。每 5-10×10⁶ 个细胞至少加入 0.75 mL 裂解液 RLS。裂解液 RLS 和液体样品的终体积比是 3: 1。
- 2. 将样品剧烈震荡混匀,在室温(15-25°C)条件下孵育 5 min 以使核蛋白体完全分解。
- 3. 每 0.75~mL 裂解液 RLS 加 0.2~mL 氯仿,剧烈振荡 15~s 并室温下放置 2~min。
- 4. 于 4℃ 12,000 rpm(13,400×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 RLS 体积的 70%,把水相转移到新管中,进行下一步操作。
- 5. 加入 1 倍体积 70% 乙醇(请先检查是否已加入无水乙醇!),颠倒混匀(此时可能会出现沉淀)。得到的溶液和可能沉淀一起转入吸附柱 RA 中(吸附柱套在收集管内)。
- 6. 12,000 rpm (13,400×g) 离心 45 s, 弃掉废液, 将吸附柱重新套回收集管。
- 7. 加 500 μL 去蛋白液 RE, 12,000 rpm 离心 45 s, 弃掉废液。
- 加入 500 μL 漂洗液 RW (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000 rpm (13,400×g) 离心 45 s, 弃掉废液。加入 500 μL 漂洗液 RW, 重复一遍。
- 9. 将吸附柱 RA 放回空收集管中,12,500 rpm(14,500×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 30-50 μL RNase Free H₂O(事先在 65-70℃水浴中加热效果更好),室温放置 2 min,12,000 rpm(13,400×g)离心 1 min。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 min,或者另外再加 30 μL RNase Free H₂O,离心 1 min,合并两次洗脱液。
 - ▲洗脱体积越大,洗脱效率越高,如果需要 RNA 浓度较高,可以适当减少洗脱体积,但是最小体积应不少于 30 μL,体积过小会降低 RNA 洗脱效率,减少 RNA 产量。



07/流程简图



裂解:每0.25 mL液体样品,加入0.75 mL**裂解液RLS** 剧烈震荡混匀,室温5 min

分层: 0.2 mL氯仿, 剧烈振荡15 s, 室温2 min

4°C, 13,400×g离心10 min

结合:转移上层水相至新管,等体积70%乙醇 颠倒混匀,全部转移至**吸附柱RA**,13,400×g离心45 s,弃滤液

去蛋白: $500~\mu$ L**去蛋白液RE**, $13,400\times g$ 离心45~s, 弃滤液漂洗: $500~\mu$ L**漂洗液RW**, $13,400\times g$ 离心45~s, 弃滤液,重复一遍去残留乙醇: $14,500\times g$ 空甩2~min

洗脱: 30-50 μL **RNase Free H₂O**, 室温2 min 13,400×g离心1 min, 可重复洗脱一次,储存于-70°C

08/相关产品

AA0902 SPARKeasy 全血/组织/细胞基因组 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

