

Version: AC 6.0 (2024.02.22修订)

SPARKeasy Micro Sample RNA Kit

微量样品RNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AC1001

01/产品组分

序号	组分	50次 AC1001
1	裂解液 RLT Plus	20 mL
2	去蛋白液 RW1	40 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	Poly Carrier	200 µL
7	基因组 DNA 清除柱 和收集管	50 套
8	RNase Free 吸附柱 RA 和收集管	50 套
9	微量研磨杵	3 根
10	RNase-Free 收集管 (1.5 mL)	50 个

02/保存条件

Poly Carrier于-20°C保存, 其他组分室温 (15-25°C) 保存。

03/产品概述

本试剂盒在 SPARKeasy 无苯酚、氯仿 RNA 快速提取技术基础上, 通过基因组 DNA 清除柱技术确保有效清除 gDNA 残留, 得到的 RNA 不需要 DNase 消化, 可直接用于 PCR、荧光定量 PCR 等实验。

试剂盒内独特的裂解液迅速裂解微量样品的细胞和灭活细胞 RNA 酶, 然后裂解混合物通过一个基因组 DNA 清除柱, 基因组 DNA 被清除而 RNA 穿透滤过。滤过的 RNA 用乙醇调节结合条件后, RNA 在高离序盐状态下选择性吸附于特制离心柱内硅基质膜, 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 20 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

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，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
- ◇ 裂解液 RLT Plus 和去蛋白液 RW1 中含有刺激性化合物，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，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
- ◇ 样品处理量绝对不要超过基因组吸附柱和 RNA 吸附柱 RA 处理能力，否则造成 DNA 残留或者产量降低。如细胞处理量不超过 5×10^5 ，组织不超过 5 mg。
- ◇ Poly Carrier 使用方法：如果起始处理量很少，推荐使用 Poly Carrier，如果预期有较大量 DNA 产量，用户可以根据需要选择是否加入 Poly Carrier。使用时在每个样品提取所需裂解液 RLT Plus 中加入 4 μ L Poly Carrier，将裂解液 RLT Plus 与 Poly Carrier 溶液充分颠倒混匀即可。也可根据样品数量，在总共需要的裂解液 RLT Plus 中加入总共需要的 Poly Carrier 混匀备用，混合液在室温 24 h 内稳定。
- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25 $^{\circ}$ C）下进行。
- ◇ 如果处理的细胞量小于 5000 个或者处理组织量小于 10 μ g 时，匀浆前请在裂解液中加入 4 μ L Poly Carrier（按照注意事项操作）。

06/使用方案

1. 样品处理：

◆组织培养细胞

- a. 收集 $<5 \times 10^5$ 悬浮细胞到一个 1.5 mL 离心管，对于贴壁细胞，孔板培养可以直接裂解，细胞瓶培养应该先用胰蛋白酶消化后吹打下来收集。
- b. 12,500 rpm（14,500 \times g）离心 10 s（或者 300 \times g 离心 5 min），使细胞沉淀下来。完全吸弃上清，留下细胞团，注意不完全弃上清会稀释裂解液导致产量纯度降低。
- c. 轻弹管壁将细胞沉淀完全松散重悬，加 350 μ L（ $<5 \times 10^5$ 细胞）裂解液 RLT Plus，吹打混匀后用手剧烈振荡 20 s 充分裂解。
- d. 匀浆：（处理细胞量极少时 $<1 \times 10^5$ 一般不需要，涡旋振荡一分钟匀浆）。用移液器抽打裂解物 5-10 次或直到得到满意匀浆结

果（或者电动匀浆 30 s），可以剪切 DNA，降低粘稠度防堵塞吸附柱和提高产量。

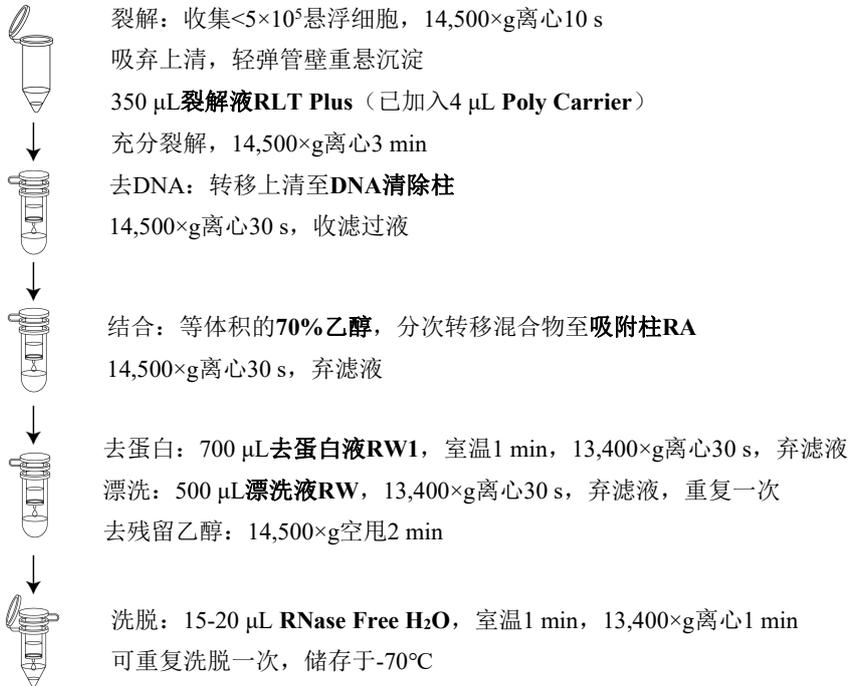
- e. 将裂解混合物或匀浆混合物全部加到 DNA 清除柱上（清除柱放在收集管内）。
- f. 接操作步骤 2。

◆动物组织（例如鼠肝脑）

- 电动匀浆：<5 mg 组织加入 350 μL 裂解液 RLT Plus 后电动彻底匀浆 20-40 s。
 - 研磨杵、匀浆：1.5 mL 离心管内，加入 100 μL 裂解液 RLT Plus，加入<5 mg 组织立刻用微量研磨杵研磨匀浆完全。补足裂解液 RLT Plus 到 350 μL。用带钝针头的一次性 1 mL（配 0.9 mm 针头）注射器抽打裂解物 10 次或直到得到满意匀浆结果（或者电动匀浆 30 s），可以剪切 DNA，降低粘稠度防堵塞吸附柱和提高产量。
 - 液氮研磨、匀浆：在液氮中研磨组织成细粉后，取适量组织细粉（<5 mg）转入装有 350 μL 裂解液 RLT Plus 的 1.5 mL 离心管中，用手剧烈振荡 20 s，充分裂解。用移液器抽打裂解物 10 次或直到得到满意匀浆结果（或者电动匀浆 30 s），可以剪切 DNA，防堵塞吸附柱和提高产量。
 - a. 将匀浆后裂解物 12,500 rpm（14,500×g）离心 3 min，沉淀可能存在的裂解困难的碎片或者不溶物，将裂解物上清全部加到 DNA 清除柱上（清除柱放在收集管内）。
 - b. 接操作步骤 2。
2. 12,500 rpm（14,500×g）离心 30 s，保留滤过液（RNA 在滤过液中）。
 3. 用微量移液器较精确估计滤过液体积（通常为 350 μL，滤过时候损失体积应该减去），加入等体积的 70%乙醇（请先检查是否已加入无水乙醇！），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。
 4. 立刻将混合物（每次小于 700 μL，多可以分两次加入）加入一个吸附柱 RA 中（吸附柱放入收集管中），12,500 rpm（14,500×g）离心 30 s，弃废液。
 5. 加 700 μL 去蛋白液 RW1，室温放置 1 min，12,000 rpm（13,400×g）离心 30 s，弃废液。
 6. 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 30 s，弃废液。加入 500 μL 漂洗液 RW，重复一遍。
 7. 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。
 8. 取出吸附柱 RA，放入一个 RNase Free 离心管中，在吸附膜的中间部位加 15-20 μL RNase Free H₂O（事先在 70-90°C 水浴中加热可提高产量），室温放置 1 min，12,000 rpm（13,400×g）离心 1 min。

▲减少洗脱体积可以提高 RNA 浓度，但是 RNA 产量会降低，用户根据需要选择。

07/流程简图



08/相关产品

- AA1301-A SPARKeasy 微量/临床基因组 DNA 快速提取试剂盒
- AA1301-B SPARKeasy 微量/临床基因组 DNA 快速提取试剂盒（含蛋白酶 K）
- AC1706 Poly Carrier 核酸助沉剂
- AC1707 Glycogen 核酸助沉剂
- AG0304 SPARKscript II RT Plus Kit（With gDNA Eraser）
- AG0305 SPARKscript II All-in-one RT SuperMix for qPCR（With gDNA Eraser）
- 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

