

Version: AC 6.0 (2024.02.22修订)

SPARKeasy Fiber Tissue RNA Kit

纤维类组织RNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AC1201

01/产品组分

序号	组分	50次 AC1201
1	裂解液 RLT Plus	35 mL
2	去蛋白液 RW1	36 mL 第一次使用前加入 4 mL 无水乙醇
3	漂洗液 RW	13 mL 第一次使用前加入 52 mL 无水乙醇
4	RNase Free H ₂ O	20 mL
5	蛋白酶 K 溶液 (20 mg/mL)	1 mL
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

蛋白酶K溶液于-20°C保存, 其他组分室温 (15-25°C) 保存。

03/产品概述

独特的裂解液迅速裂解细胞和灭活细胞 RNA 酶, 然后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

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去蛋白液 RW1、漂洗液 RW 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 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。
- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25 °C）下进行。

06/使用方案

1. 充分破碎匀浆（非常重要，否则严重降低产量）

- 电动破碎匀浆（首选强烈推荐，产量最高结果最稳定）：取约 10-20 mg (<30 mg) 新鲜组织，加入 300 μL 裂解液 RLT Plus 后用电动刀片匀浆机（Rotor-Stator 如 TissueRupter）或者电动玻璃珠研磨机（Bead Mill 如 TissueLyser）按照机器使用说明彻底破碎匀浆组织细胞。
- 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 10-20 mg (<30 mg) 转入装有 300 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，降低粘稠度和提高产量。
- 研钵研磨匀浆：取适量组织细粉 10-20 mg (<30 mg) 放入小研钵后，迅速加入 300 μL 裂解液 RLT Plus 后直接室温充分研磨匀浆。将匀浆转入新离心管。
 - ▲ 如果匀浆沾在研钵内损失比较大，可以按照比例适当提高起始组织用量和裂解液 RLT Plus 用量。此外，也可以先用液氮研磨组织成细粉，然后液氮刚刚蒸发完的时候加入裂解液 RLT Plus 充分研磨匀浆，可以提高研磨效果。

2. 吸取 190 μL RNase Free H₂O 至匀浆中，加入 10 μL 蛋白酶 K，移液器吹打混匀，55 °C 下水浴 10 min。

3. 室温下以 12,500 rpm (14,500×g) 离心 5 min。这样将会形成小量的组织碎片沉淀，而且在上清的顶部可能看见少量的漂浮物。

4. 转移上清至一个新的 1.5 mL 离心管中。

▲ 转移时不要带入沉淀物，而且移液枪头必须放在上清漂浮物之下。漂浮物通常会黏附在枪头的外壁，注意不能将其带入离心管中。

5. 较精确估计裂解物（上清）体积，加入 0.5 体积的无水乙醇（一般为 250 μL），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。

6. 立刻将混合物（每次小于 700 μL，可以分两次加入）加入同一个吸附柱 RA 中（吸附柱放入收集管中），12,500 rpm (14,500×g) 离心 60 s，弃废液。

▲ 确保离心后液体全部滤过去，膜上没有残留，如有必要，可以加大离心力和离心时间。

7. 加 700 μL 去蛋白液 RW1（请先检查是否已加入无水乙醇！），室温放置 30 s，12,000 rpm (13,400×g) 离心 30 s，弃废液。

8. 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。

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 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。
11. 可选：使用第一次的洗脱液加回到吸附柱重复步骤一遍（如果需要 RNA 浓度高）。

▲ 洗脱两遍的 RNA 洗脱液 RNA 浓度会适当提高一些。如果预期 RNA 产量 > 30 μg，可加 30-50 μL RNase Free H₂O 重复步骤 10，合并两次洗脱液，可以提高产量 15-30%，但浓度会有所降低。

07/流程简图



裂解：10-20 mg 液氮研磨细粉，300 μL **裂解液 RLT Plus**，剧烈震荡

消化：190 μL **RNase Free H₂O**
10 μL **蛋白酶 K**，吹打混匀，55°C 10 min，14,500×g 离心 5 min

结合：转移上清至新管，0.5 体积无水乙醇
分次转移混合物至 **吸附柱 RA**，14,500×g 离心 60 s，弃滤液

去蛋白：700 μL **去蛋白液 RW1**，室温 30 s，13,400×g 离心 30 s，弃滤液
漂洗：500 μL **漂洗液 RW**，13,400×g 离心 30 s，弃滤液，重复一次
去残留乙醇：14,500×g 空甩 2 min

洗脱：30-50 μL **RNase Free H₂O**，室温 1 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

AA1907 蛋白酶 K (20 mg/mL)

AC1709 RNase-Free and DNase-Free 纯水

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

