

Version: AC 6.0 (2024.02.22修订)

SPARKeasy Improved Tissue/Cell RNA Kit

改良组织/细胞RNA快速提取试剂盒

(含基因组DNA清除柱)

目录号: AC0202

01/产品组分

| 序号 | 组分 | 50 次 AC0202-A | 100 次 AC0202-B |
|----|-----------------------------|------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------|
| 1 | 裂解液 RLT Plus | 35 mL | 70 mL |
| 2 | 去蛋白液 RW1 | 36 mL 第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇 4 mL | 72 mL 8 mL |
| 3 | 漂洗液 RW | 13 mL 第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇 52 mL | 24 mL 96 mL |
| 4 | RNase Free H ₂ O | 10 mL | 20 mL |
| 5 | 70%乙醇 | 9 mL RNase Free H ₂ O 第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇 21 mL | 18 mL RNase Free H ₂ O 42 mL |
| 6 | 基因组 DNA 清除柱 和收集管 | 50 套 | 100 套 |
| 7 | RNase Free 吸附柱 RA 和收集管 | 50 套 | 100 套 |
| 8 | RNase-Free 收集管(1.5 mL) | 50 个 | 100 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

该产品基于 SPARKeasy 无苯酚、氯仿 RNA 快速提取技术，以及基因组 DNA 清除柱技术（而非 DNase 消化），确保有效清除 gDNA 残留，得到的 RNA 可直接用于 PCR、荧光定量 PCR 等实验。

该试剂盒内独特的裂解液迅速裂解细胞并灭活细胞 RNA 酶，裂解混合物通过基因组 DNA 清除柱，基因组 DNA 被清除而 RNA

穿透滤过。然后用乙醇调节结合条件后，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 20 min 内完成单个样品 RNA 的提取，提取的总 RNA 完整性好，无蛋白和基因组 DNA 污染。

不同样本提取 RNA 的大致产量与纯度如下：

| 样本类型 | 样本量 | RNA 平均产量 | 纯度 (A260/A280) |
|-----------|-------|----------|----------------|
| 胚胎 (13 天) | 20 mg | 22-28 µg | 1.8-2.0 |
| 肾脏 | 15 mg | 29-35 µg | 1.8-2.0 |
| 肝脏 | 10 mg | 50 µg | 1.8-2.0 |
| 脾 | 15 mg | 32-35 µg | 1.8-2.0 |
| 胸腺 | 10 mg | 40-45 µg | 1.8-2.0 |
| 肺 | 20 mg | 18-22 µg | 1.8-2.0 |

04/自备材料

无水乙醇、55%乙醇（仅用于肝组织提取）

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！
- ◇ 样品处理量不要超过基因组 DNA 清除柱和 RNA 吸附柱 RA 处理能力，否则造成 DNA 残留或者产量降低。不同组织细胞种类 RNA/DNA 相差极大，例如胸腺、脾脏 DNA 含量丰富，超过 5 mg 就会超过 DNA 清除柱处理能力。COS 细胞 RNA 含量丰富，超过 3×10⁶细胞就会超过 RNA 吸附柱 RA 吸附能力。
- ◇ 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。
- ◇ 若提取肝脏组织，请仔细阅读“06/使用方案”。
- ◇ 本试剂盒不适合提取纤维含量丰富样本（如心脏）及软骨、骨组织，如提取此类型组织样本请选择相应试剂盒。

06/使用方案

1. 样本处理：

◆ 组织培养细胞

- a. 收集 $<10^7$ 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. 12,000 rpm ($13,400\times g$) 离心10 s，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，从而导致产量纯度降低。
- c. 轻弹管壁将细胞沉淀完全松散重悬，加入350 μL ($<5\times 10^6$ 细胞) 或者600 μL (5×10^6 - 1×10^7 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. 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. 立刻接操作步骤2。

◆动物组织（例如鼠肝脑）

- 电动匀浆：新鲜组织用解剖刀迅速切成小碎块，加入350 μL (<20 mg组织) 或者600 μL (20-30 mg组织) 的裂解液RLT Plus后电动彻底匀浆20-40 s。将裂解物溶液全部加到DNA清除柱上（清除柱放在收集管内），立刻接操作步骤2。
 - 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（20 mg/30 mg）转入装有350 μL /600 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。将裂解物溶液全部加到DNA清除柱上（清除柱放在收集管内），立刻接操作步骤2。
 - ▲若使用上述两种方式匀浆后裂解物碎片过多，可12,000 rpm ($13,400\times g$) 离心3 min，沉淀可能存在裂解困难的碎片或者不溶物，再取上清加到DNA清除柱中。
2. 立刻12,000 rpm ($13,400\times g$) 离心60 s，保留滤过液（RNA在滤过液中）。
 - ▲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。
 3. 用微量移液器较精确估计滤过液体积（通常为350 μL /600 μL ，滤过时损失体积应减去），加入等体积的70%乙醇（请先检查是否已加入无水乙醇！）（对于肝组织样本，加入等体积的55%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。
 - ▲提取肝脏组织应加入等体积55%乙醇，否则会降低产量。
 4. 立刻将混合物（每次小于700 μL ，多可以分两次加入）加入吸附柱RA中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm ($13,400\times g$) 离心30 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。
 5. 加入700 μL 去蛋白液RW1（请先检查是否已加入无水乙醇！），室温放置1 min，12,000 rpm ($13,400\times g$) 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 ($13,400\times g$) 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，12,000 rpm ($13,400\times g$) 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。

8. 取出吸附柱RA，放入干净的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 H_2O （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 \times g）离心1 min。
9. 如果预期RNA产量>30 μg ，加30-50 μL RNase Free H_2O 重复步骤8，合并两次洗脱液或者使用第一次的洗脱液加回到吸附柱重复洗脱一次（如果需要RNA浓度高）。
- ▲使用第一次洗脱液重复洗脱两遍的RNA浓度高，分两次洗脱合并洗脱液的RNA产量比前者高15-30%，但是浓度要低，用户根据需要选择。

07/流程简图



08/相关产品

AC0201 SPARKeasy 组织/细胞RNA快速提取试剂盒

AC0205 SPARKeasy 细胞RNA快速提取试剂盒

AC1201 SPARKeasy 纤维类组织RNA快速提取试剂盒

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

