

Version: AC 6.0 (2024.02.22修订)

SPARKeasy Superpure Total RNA Kit

超纯总RNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AC0103

01/产品组分

序号	组分	50 次 AC0103
1	裂解液 RL	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	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

裂解液RL于2-8℃避光保存，其他组分室温（15-25℃）保存。

03/产品概述

该产品基于改进的异硫氰酸胍/酚一步法（SparkZol 法）裂解细胞和灭活 RNA 酶，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漂洗、离心的步骤以及去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物、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 40 分钟之内完成样品 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

氯仿、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 RL 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。

06/使用方案

1. 匀浆处理

- ◆ 组织：将组织在液氮中磨碎，每 50-100 mg 组织加 1 mL 的裂解液 RL 后匀浆。组织样品容积不能超过裂解液 RL 容积的 10%。
- ◆ 单层生长的细胞：直接往直径 3.5 cm 的培养板中加入 1 mL 的裂解液 RL 溶解细胞，并用移液枪轻轻吹打混匀。依据培养板的面积而不是依据细胞的数量来决定所需的裂解液 RL 量（每 10 cm² 加 1 mL）。一般情况下，普通大小的细胞培养瓶，加入 1 mL 的裂解液 RL，迅速轻摇使裂解液 RL 充分和瓶底所有细胞接触，裂解细胞并灭活 RNA 酶，轻轻用移液枪反复吹打混匀。当裂解液 RL 量不足时可导致基因组 DNA 残留。
- ◆ 悬浮生长的细胞：通过离心来沉淀细胞，小心弃上清。每 5-10×10⁶ 的动物细胞，植物细胞加 1 mL 的裂解液 RL。在裂解液 RL 试剂中用移液枪反复吹打来裂解细胞。在加入 RL 前应避免洗涤细胞，否则会增加 mRNA 降解的可能性。

2. 将匀浆样品剧烈震荡混匀，在 15-25℃ 条件下孵育 5 min 以使核蛋白体完全分解。

3. 可选步骤：4℃ 12,500 rpm (14,500×g) 离心 10 min，小心取上清转入一个新的 RNase Free 的离心管中。

▲ 如样品中含有较多蛋白质，脂肪，多糖或肌肉，植物的块茎结节等可离心去除。离心后的沉淀中包含有细胞外膜，多糖，以及高分子量 DNA，上清中含有 RNA。处理脂肪组织的样品时，上层是大量油脂应除去。取澄清的匀浆液进行下一步。

4. 每 1 mL 裂解液 RL 加 0.2 mL 氯仿。盖紧样品管盖，剧烈振荡 15 s 并将其在室温下孵育 3 min。

5. 于 4℃ 12,500 rpm (14,500×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裂解液 RL 体积的 50%，把水相小心转移到新管中（不要触碰中间层），记录水相体积。

6. 加入水相体积一半（0.5 倍体积）的无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀）。得到的溶液和可能出现的沉淀一起转入吸附柱 RA 中，12,000 rpm (13,400×g) 离心 45 s，弃废液，将吸附柱重新套回收集管。

▲ 若一次不能将全部溶液和混合物加入吸附柱 RA 中，请分两次转入吸附柱 RA 中。

7. 加入 500 μL 去蛋白液 RE，12,000 rpm (13,400×g) 离心 45 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 45 s，弃废液。

9. 重复步骤 8 一次。

10. 将吸附柱 RA 放回空收集管中，12,000 rpm (13,400×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。

11. 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 H_2O ，室温放置2 min，12,000 rpm（13,400 $\times g$ ）离心1 min。如果需要较多RNA，可将得到的RNA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 H_2O ，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，但是最小体积不应少于30 μL ，体积过小降低RNA洗脱效率，减少RNA产量。

07/流程简图



08/相关产品

AC0101 SparkZol Reagent

AC0102 SparkZol Reagent LS

AC1710 DNase I 柱上消化试剂盒 (RNase Free)

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

