

Version: AC 6.0 (2024.02.22修订)

SPARKeasy Tissue/Cell RNA kit

组织/细胞RNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AC0201

01/产品组分

序号	组分	50次 AC0201
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	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

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，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、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!
- ◇ 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。
- ◇ RNA 在裂解液 RLT Plus 中时不会被 RNase 降解。但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。
- ◇ 若提取肝脏组织，请仔细阅读“06/使用方案”。

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. 12,500 rpm (14,500×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 μ L ($<5 \times 10^6$ 细胞) 或者600 μ L (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. 用带钝针头的一次性1 mL (配0.9 mm针头) 注射器抽打裂解物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. 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 μ L (<20 mg组织) 或者600 μ L (20-30 mg组织) 的裂解液RLT Plus 后电动彻底匀浆20-40 s，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 μ L/600 μ L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1 mL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。将匀浆后的裂解物12,500 rpm (14,500×g) 离心3 min，沉淀可能存在裂解困难的碎片或不溶物，将裂解物上清小心转到一个新离心管，接操作步骤2。

2. 较精确估计裂解物 (上清) 体积，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。

3. 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 $\times g$ ）离心60 s，弃掉废液。

▲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。

4. 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 $\times g$ ）离心30 s，弃掉废液。

5. 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，弃掉废液。加入500 μL 漂洗液RW，重复一遍。

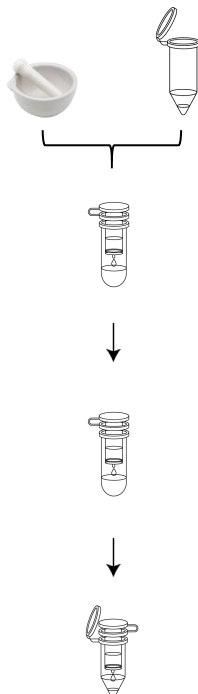
6. 将吸附柱RA放回空收集管中，12,000 rpm（13,400 $\times g$ ）离心2 min，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

7. 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 （事先在70-90 $^\circ\text{C}$ 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。

8. 如果预期RNA产量 $>30 \mu\text{g}$ ，加30-50 μL RNase Free H_2O 重复步骤7，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步骤一遍（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



裂解：20 mg动物组织液氮研磨细粉

350 μL 裂解液RLT Plus，剧烈振荡20 s匀浆
14,500 $\times g$ 离心3 min

沉淀：吸上清，等体积的70%乙醇
（肝组织加等体积55%乙醇）

转移上述混合物至吸附柱RA
14,500 $\times g$ 离心60 s，弃滤液

去蛋白：700 μL 去蛋白液RW1，室温30 s
13,400 $\times g$ 离心30 s，弃滤液

漂洗：500 μL 漂洗液RW，13,400 $\times g$ 离心30 s
弃废液，重复一次。

去残留乙醇：13,400 $\times g$ 空甩2 min

洗脱：30-50 μL RNase Free H_2O ，室温放置1 min
13,400 $\times g$ 离心1 min，储存于-70 $^\circ\text{C}$

08/相关产品

- AC0101 SparkZol Reagent
- AC0202 SPARKeasy 组织/细胞 RNA 快速提取试剂盒 (含基因组 DNA 清除柱)
- AC1201 SPARKeasy 纤维类组织 RNA 快速提取试剂盒
- AC1711 DNase I (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

