

Version: AC 6.0 (2024.02.22修订)

# SPARKeasy Plant RNA Kit

## 植物RNA快速提取试剂盒

(含DNA酶柱上消化、离心柱型)

目录号: AC0302

### 01/产品组分

序号	组分	50 次 AC0302
1	裂解液 RPA	50 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 <sub>2</sub> O	10 mL
5	DNase I Buffer	1.25 mL×2
6	RNase Free DNase I	0.25 mL
7	RNase Free 吸附柱 RA 和收集管	50 套
8	RNase-Free 收集管(1.5 mL)	50 个

### 02/保存条件

DNase I Buffer和RNase Free DNase I于-20°C保存，其他组分室温（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 H<sub>2</sub>O 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。该产品可在 50 min 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。

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)
新鲜烟草叶片	100 mg	73 µg	1.8-2.0
新鲜拟南芥叶片	100 mg	35 µg	1.8-2.0
新鲜玉米叶片	100 mg	25 µg	1.8-2.0
新鲜番茄叶片	100 mg	65 µg	1.8-2.0

## 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 RPA 和去蛋白液 RW1 中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，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. 样品处理

#### ◆直接研磨法（推荐）：

- 新鲜植物组织称重后取 100-200 mg 迅速剪成小块放入研钵（冰冻保存或者液氮保存样品可直接称重后取 100-200 mg 放入研钵），加入 1 mL 裂解液 RPA 室温下充分研磨成匀浆，注意应该迅速研磨让组织和裂解液 RPA 立刻充分接触以抑制 RNA 酶活性。
- 将裂解物转入离心管，剧烈摇晃振荡 15 s，12,500 rpm（14,500×g）离心 5-10 min，沉淀不能裂解的碎片。
- 取裂解物上清（在不超过 RNA 吸附柱能力的情况下可以取更多或者全部上清，这样可以提高产量）转到一个新离心管。加入上清体积一半的无水乙醇（0.5 体积），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。
- 立刻接操作步骤 2。

#### ◆液氮研磨法：

- 取 500 µL 裂解液 RPA 于 1.5 mL 离心管中。
- 液氮中研磨适量植物组织成细粉后，取 50-100 mg 细粉转入上述装有裂解液 RPA 的离心管，立即用手剧烈振荡 20 s，充分

裂解。

- c. 用移液器吹打混匀帮助裂解或者剧烈涡旋震荡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。
- d. 将裂解物 12,500 rpm（14,500×g）离心 5-10 min，沉淀不能裂解的碎片。
- e. 取裂解物上清（在不超过吸附柱 RA 能力的情况下可以取更多的上清，这样可以提高产量）转到一个新离心管。加入上清体积一半的无水乙醇（0.5 倍体积），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。
- f. 立刻接操作步骤 2。

▲以上液氮研磨法用户可以根据需要加倍处理，可以提高产量。也就是使用 1 mL 的裂解液 RPA 和 100 mg-200 mg 的样品。

2. 立刻将混合物（每次小于 720 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），12,000 rpm（13,400×g）离心 2 min，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。

3. 加 350 μL 去蛋白液 RW1，室温放置 1 min，12,000 rpm 离心 30 s，弃掉废液。
4. DNase I 工作液配制：取 45 μL DNase I buffer 和 5 μL RNase-free DNase I 在离心管轻轻吹打混匀成工作液（处理多个离心柱子要按照比例放大制备工作液）。

▲DNase Buffer 含  $Mn^{2+}$ ，可能有轻度发黄发黑，甚至黑色沉淀为正常现象，颠倒混匀后正常使用即可。

5. 向吸附柱 RA 中央加入 50 μL 的 DNase I 工作液，室温（15-25°C）放置 15 min。注意直接将工作液滴在膜中央上，不要让工作液滴在 O 型圈或是离心柱管壁上。
6. 向吸附柱 RA 中加入 350 μL 去蛋白液 RW1，12,000 rpm（13,400×g）离心 30 s，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
7. 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。
8. 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。
9. 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<sub>2</sub>O（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。
10. 如果预期 RNA 产量 > 30 μg，加 30-50 μL RNase Free H<sub>2</sub>O 重复步骤 9，合并两次洗液，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。

▲如果不需要做荧光定量 PCR，仅仅做普通的反转录，克隆基因片段，可以省略 DNA 酶柱上消化的步骤，具体就是第 3 步骤的“加 350 μL 去蛋白液 RW1”改成“加 700 μL 去蛋白液 RW1”，同时省略步骤 4,5,6。

## 07/流程简图



## 08/相关产品

- AC0303 SPARKeasy 改良型植物 RNA 快速提取试剂盒
- AC0305 SPARKeasy 新型植物 RNA 快速提取试剂盒
- AC0307 SPARKeasy 多糖多酚/复杂植物 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](mailto:support@sparkjade.com)

