

Version: AC 6.0 (2024.02.22修订)

## SPARKeasy Improved Plant RNA Kit

### 改良型植物RNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AC0303

#### 01/产品组分

序号	组分	50次 AC0303
1	裂解液 RLT	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 <sub>2</sub> 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

本产品所有组分室温 (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 H<sub>2</sub>O 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。该产品可在 30 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。

## 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！
- ◇ 样本处理：在推荐投入量范围内进行实验，后续可根据实验情况增加或者减少投入量。
- ◇ 淀粉含量高的植物组织(如土豆、红薯、种子类等)与裂解液室温反应会产生胶状物质，接触时间越长，胶状物质越多，因此样本裂解后需尽快离心取上清；为取得更多的上清，可以适当增加裂解液的用量；取上清时需避免吸取到胶状物质。
- ◇ 裂解液 RLT 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. 样本处理：

#### ◆样本量推荐方案：

样本种类	推荐投入量	材料示例
简单植物组织	30 - 100 mg	小麦、烟草、玉米、油菜等
多糖多酚植物叶片		棉花叶、银杏叶、大豆叶等
淀粉含量高的植物组织	20 - 50 mg	小麦种子、玉米种子、土豆等
油性高的植物组织		花生种子、油菜籽等
水果果肉	100 - 200 mg	香蕉、苹果、圣女果等
真菌	20 - 100 mg	香菇、平菇、粗糙脉孢菌等

#### ◆直接研磨法（推荐）：

- a. 参考操作步骤项 1 下样本量推荐方案，新鲜植物组织称重后取适量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适量放入研钵），加入 500  $\mu$ L 裂解液 RLT 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 RLT 立刻充分接触以抑制 RNA 酶活性。
- b. 将裂解物转入离心管，剧烈摇晃振荡 15 s。
- c. 立刻接操作步骤项 2。

#### ◆液氮研磨法（提取复杂，易降解样品时推荐此法）：

- a. 取 500  $\mu\text{L}$  裂解液 RLT 于 1.5 mL 离心管中备用。
- b. 液氮中研磨适量植物组织成细粉后，参考操作步骤项 1 下样本量推荐方案转入上述装有 RLT 的离心管，立即用手剧烈振荡 20 s，充分裂解。
- c. 用吸头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. 立刻接操作步骤项 2。

## 2. 将裂解物 12,500 rpm (14,500 $\times$ g) 离心 5-10 min，沉淀不能裂解的碎片。

▲淀粉含量高的植物组织(如土豆、红薯、种子类等)与裂解液在室温下反应会产生胶状物质，接触时间越长，胶状物质越多，因此样本裂解后需尽快离心取上清；取上清时需避免吸取到胶状物质。

▲离心后上清有少量漂浮物属正常现象，可直接进行后续实验。

## 3. 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。

▲上清体积可根据实际情况做出相应调整。

▲若加醇后出现浑浊或有絮状物产生，属正常现象，可将混合液(包括絮状物)继续进行后续操作。

## 4. 立刻将混合物（每次小于 720 $\mu\text{L}$ ，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 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。

## 5. 加 700 $\mu\text{L}$ 去蛋白液 RW1（请先检查是否已加入无水乙醇！），室温放置 1 min，12,500 rpm (14,500 $\times$ g) 离心 30 s，弃掉废液。

## 6. 加入 500 $\mu\text{L}$ 漂洗液 RW（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,500 rpm (14,500 $\times$ g) 离心 30 s，弃掉废液。加入 500 $\mu\text{L}$ 漂洗液 RW，重复一遍。

## 7. 将吸附柱 RA 放回空收集管中，12,500 rpm (14,500 $\times$ 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，放入一个新 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 $\mu\text{L}$ RNase Free $\text{H}_2\text{O}$ （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。

## 9. 如果预期 RNA 产量 > 30 $\mu\text{g}$ ，加 30-50 $\mu\text{L}$ RNase Free $\text{H}_2\text{O}$ 重复步骤 8，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。

### 附录 1: DNA 酶柱上消化（详细请参考 AC1710 DNase I 柱上消化试剂盒说明书）

1. 按照前面所列 AC0303 试剂盒操作步骤操作，直到做完操作步骤 4。
2. 取 45  $\mu\text{L}$  DNase I buffer 和 5  $\mu\text{L}$  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）。

3. 向吸附柱 RA 中加入 350  $\mu\text{L}$  去蛋白液 RW1（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，将吸附柱放回收集管中。
4. 向吸附柱 RA 中央加入 50  $\mu\text{L}$  的 DNase I 工作液，室温（15-25 $^{\circ}\text{C}$ ）放置 15 min。注意直接将工作液滴在膜中央上向膜四周浸润充分和膜接触，不要让工作液滴在 O 型垫圈或是离心柱管壁上挂壁或者挂在垫圈上不能充分和膜接触。
5. 向吸附柱 RA 中加入 350  $\mu\text{L}$  去蛋白液 RW1（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 30-60 s，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
6. 接着做操作步骤 6，并完成后续所有步骤。

## 07/流程简图



## 08/相关产品

AC0101 SparkZol Reagent

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)

