

Version: AC 6.0 (2024.02.22修订)

SPARKeasy Plant RNA Kit

新型植物RNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AC0305

01/产品组分

| 序号 | 组分 | 50 次 AC0305 |
|----|-----------------------------|------------------------------|
| 1 | 裂解液 RLT | 35 mL |
| 2 | 裂解液 CLB (赠送) | 8 mL |
| 3 | 去蛋白液 RW1 | 36 mL 第一次使用前加入 4 mL 无水乙醇 |
| 4 | 漂洗液 RW | 13 mL 第一次使用前加入 52 mL 无水乙醇 |
| 5 | RNase Free H ₂ O | 10 mL |
| 6 | 基因组 DNA 清除柱 和收集管 | 50 套 |
| 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

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和灭活细胞 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！
- ◇ 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。
- ◇ 环境温度低时裂解液 RLT 可能会析出沉淀或出现浑浊，可在 37°C 水浴加热帮助恢复澄清。
- ◇ 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，否则会造成 DNA 残留或者产量降低。
- ◇ 所有离心操作步骤，均可在室温（15-25°C）下进行。
- ◇ 裂解液 CLB（赠送）是针对一些特别复杂的植物样品提取，裂解液 RLT 提取效果不好时可以尝试使用裂解液 CLB 进行提取，具体使用方法请仔细阅读附录的使用说明。

06/使用方案

1. 样品处理：

◆ 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 |

◆ 液氮研磨法：

- a. 取 500 μ L 裂解液 RLT，转入 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，取 50 mg 左右细粉转入上述装有裂解液 RLT 的离心管，立即用手剧烈振荡 20 s，充分裂解。

▲ 用户可以根据需要调整样本量，如裂解后比较粘稠应减少样本处理量或者增加裂解液 RLT 使用量。

▲不同样本 DNA 含量不同，过多的样本量可能会导致 DNA 残留。

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，以降低粘稠度和提高产量。

d. 立刻接操作步骤 2。

▲如果裂解后仍有不能完全裂解的组织，可以将裂解物 12,500 rpm (14,500×g) 离心 3-5 min，以沉淀不能裂解的碎片。

2. 将裂解产物或者上清（每次小于 720 μL，多可以分两次加入）加入一个基因组 DNA 清除柱中（清除柱放入收集管中），12,500 rpm (14,500×g) 离心 2 min，收集滤液。

▲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. 用微量移液器较精确估计滤过液体积，加入 0.5 倍体积的无水乙醇，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。

4. 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），12,500 rpm (14,500×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 μL 去蛋白液 RW1，室温放置 1 min，12,500 rpm (14,500×g) 离心 30 s，弃掉废液。

6. 加入 500 μL 漂洗液 RW（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,500 rpm (14,500×g) 离心 30 s，弃掉废液。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，12,500 rpm (14,500×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 RNase free 收集管中，根据预期 RNA 产量在吸附膜的中间部位加 30-50 μL RNase Free H₂O（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。

9. 如果要获得更高的 RNA 产量，可再加 30-50 μL RNase Free H₂O 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。

▲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，但是浓度要低，用户可根据需要自行选择。

附录：裂解液 CLB 使用说明

一些特别复杂的植物样品提取，如葡萄果实，蓝莓果实，百合鳞茎等，AC0305 的裂解液 RLT 可能无法提取，需选择 AC0307 多糖多酚复杂植物 RNA 快速提取试剂盒。一些样品产量较低，也可以尝试 AC0307 多糖多酚复杂植物 RNA 快速提取试剂盒。AC0307 采用强力裂解液 CLB，在很多情况下，可以提取复杂样品或者明显提高产量（详情请查看 AC0307 说明书）。本试剂盒目前赠送 8 mL AC0307 裂解液 CLB，如有需要，可以测试裂解液 CLB 提取样品的效果。

SPARKeasy 新型植物 RNA 快速提取试剂盒使用新裂解液 CLB 操作步骤

◇ 取 1 mL 裂解液 CLB 至离心管内（如果 CLB 有析出或者沉淀需先置于 65°C 水浴重新溶解），在裂解液 CLB 中加入 5% β-

巯基乙醇（1 mL CLB 加 50 μ L β -巯基乙醇）。颠倒混匀后 65°C 水浴中预热。

1. 液氮中研磨新鲜或-70°C 冷冻的材料至细粉。
2. 转移 50 mg-100 mg 细粉（水分多的样品如西瓜可多加一些）加至预热的裂解液 CLB（已加有 β -巯基乙醇）离心管中，立即激烈涡旋 30-60 s 或者用吸头吹打混匀裂解，短暂放回 65°C 水浴中放置 5 min-10 min，中间偶尔颠倒 1-2 次帮助裂解。
▲ β -巯基乙醇是裂解液 CLB 的关键成分，必要的时候可以提终浓度到 10-20%。
3. 振荡混匀后室温 12,500 rpm 离心 10 min。
4. 取裂解物上清（在不超过基因组 DNA 清除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 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。
▲若上清表面有漂浮物，用吸头挑开吸取下面液体即可。
5. 混合物（每次小于 720 μ L，多可以分两次加入）加入一个基因组清除柱中，（清除柱放入收集管中）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。
6. 将基因组 DNA 清除柱放在一个干净 2 mL 离心管内（不用 RNase Free 或者 DEPC 处理，一般干净的新离心管即可），在基因组清除柱内加 500 μ L 裂解液 RLT，12,500 rpm（14,500 \times g）离心 30 s，收集滤液（RNA 在滤液中），用移液器较精确估计滤过液体积（通常为 450-500 μ L 左右，滤过时候损失体积应该减去），加入 0.5 倍体积的无水乙醇，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。
7. 立刻将混合物（每次小于 720 μ 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。
8. 立刻接 AC0305 操作步骤的步骤 5。

07/流程简图



裂解: 50 mg液氮研磨细粉
500 μ L裂解液RLT, 剧烈振荡20 s,
(可选) 14,500 \times g离心3-5 min



去DNA: 转移裂解产物或上清至基因组DNA清除柱
14,500 \times g离心2 min, 收滤液, 0.5倍体积的无水乙醇



结合: 转移混合物至吸附柱RA
14,500 \times g离心2 min, 弃滤液



去蛋白: 700 μ L去蛋白液RW1, 室温1 min
14,500 \times g离心30 s, 弃滤液
漂洗: 500 μ L漂洗液RW, 14,500 \times g离心30 s重复一次
去残留乙醇: 14,500 \times g空甩2 min



洗脱: 30 μ L-50 μ L RNase Free H₂O
室温1 min, 13,400 \times g离心1 min
可重复洗脱一次, 储存于-70 $^{\circ}$ C

08/相关产品

AC0101 SparkZol Reagent

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 \times 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

