

FlysisAmp Cells Lysis Kit

CL101



使用说明书

Version 23.1

目录 Contents

01/产品概述	02
02/产品组分	02
03/保存条件	02
04/适用范围	02
05/自备材料	02
06/注意事项	02
07/实验原理与流程概要	03
08/实验流程	04
09/常见问题与解决方案	05

01/产品概述

FlysisAmp Cells Lysis Kit是一款快速、高效的细胞RNA获取试剂盒，可兼容 $10^4 - 10^6$ 个培养细胞（贴壁或悬浮细胞）。本产品可在细胞培养板中直接完成基因组DNA清除和RNA获取，全流程仅需7 min，这种方法无须借助传统提取方式中的加热、清洗、转管和离心等步骤，提升效率的同时也可减少样品纯化过程中的损失。本试剂盒兼容广泛的细胞类型及细胞量，还可以解决传统提取方式中低细胞数提取效果不理想的问题。本试剂盒可用于高通量（96/384孔细胞板）获取细胞RNA，进行RT-PCR、RT-qPCR等多种下游实验。

02/产品组分

组 分		CL101-01 100 rxns (50 μ l/rxn)	CL101-02 500 rxns (50 μ l/rxn)
<input type="checkbox"/>	FlysisAmp Cells Lysis Buffer*	5 ml	25 ml
<input checked="" type="checkbox"/>	DNase I	200 μ l	1 ml
<input checked="" type="checkbox"/>	Enhancer Solution	200 μ l	1 ml
<input checked="" type="checkbox"/>	FlysisAmp Cells Stop Buffer	500 μ l	2 \times 1.25 ml

* FlysisAmp Cells Lysis Buffer解冻后可于2 ~ 8 $^{\circ}$ C条件下稳定存放1年。

03/保存条件

-30 ~ -15 $^{\circ}$ C保存， \leq 0 $^{\circ}$ C运输。

04/适用范围

$10^4 - 10^6$ 个培养细胞(贴壁或悬浮细胞)。

05/自备材料

1 \times PBS缓冲液、1.5 ml RNase-free离心管、RNase-free吸头、0.2 ml RNase-free八联排/PCR管等。

06/注意事项

本产品仅供科学研究使用，不得用于临床医学诊断及非合理用途。

1. 使用前请检查试剂中是否有结冰现象，如有组分结冰，可放置室温溶解，混匀后方可使用。
2. 裂解过程中如果细胞数目过多，可能导致裂解不完全或抑制后续的逆转录及qPCR反应，因此在操作前，贴壁细胞需根据板孔数选择对应体积的裂解工作液；悬浮细胞则需估算细胞数，选择对应体积的裂解工作液。
3. 使用新鲜样本，若不能及时裂解，先将细胞用预冷的PBS洗涤1次后置于-85 ~ -65 $^{\circ}$ C保存，并避免反复冻融。为了避免RNA的降解，细胞的处理与保存应尽可能迅速进行。
4. 用移液器轻轻吸打混匀，避免剧烈振荡产生气泡。

5. 使用本试剂盒时, 请穿戴实验服、一次性乳胶手套、一次性口罩、使用RNase-free耗材, 避免RNase污染。
6. 裂解过程均在无RNase污染的环境中进行; 除特别说明外, 操作均在常温(15 ~ 25°C)下进行。
7. 可使用微孔板振荡器以600 rpm振荡30 sec替代吸打混匀。

07/实验原理与流程概要

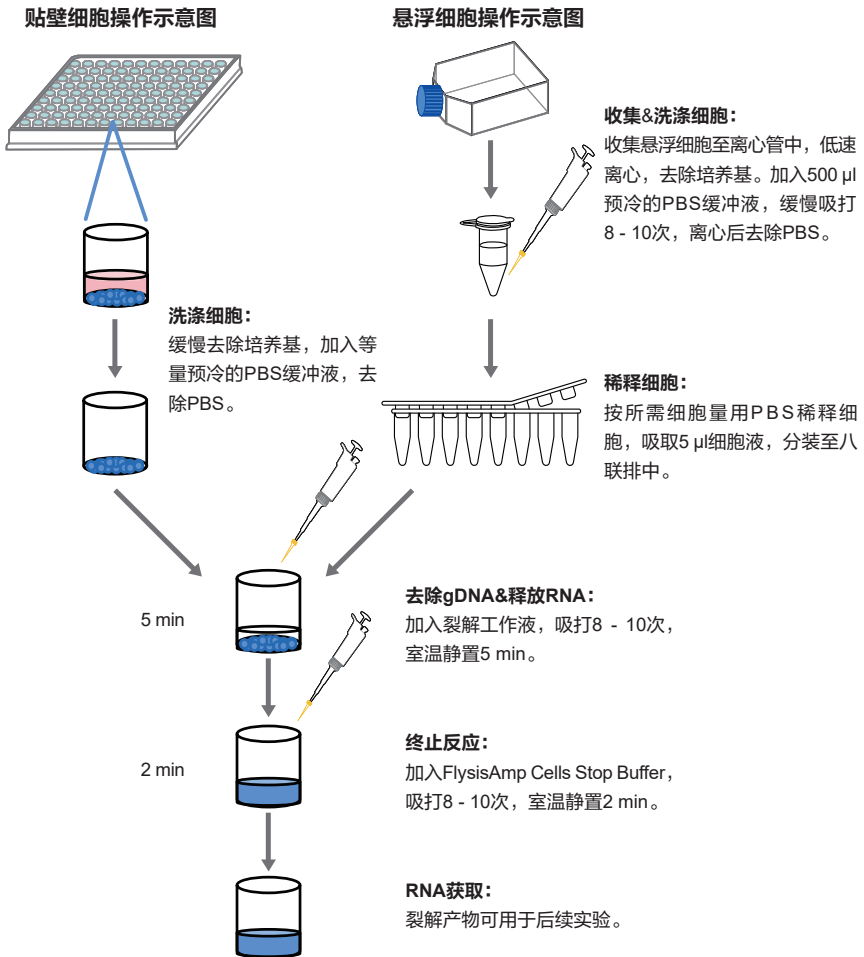


Fig 1. FysisAmp Cells Lysis Kit操作流程

08/实验流程

◇贴壁细胞：

1. 样本处理与准备

将不同孔板的贴壁细胞轻轻去除细胞培养基后，贴壁缓慢加入与培养基等体积的预冷的1 × PBS洗涤，缓慢去除PBS后，置于冰上备用。

▲ 去除培养基或PBS时动作应尽量轻缓，避免在清洗过程中造成细胞损失。

2. RNA获取

a. 配制裂解工作液(以96孔板为例)

组分	体积
FlysisAmp Cells Lysis Buffer	46 μl □
DNase I	2 μl ■
Enhancer Solution	2 μl ■
Total	50 μl

▲ 裂解工作液按照孔板所需体积进行配制，各组分的比例为FlysisAmp Cells Lysis Buffer : DNase I : Enhancer Solution = 23 : 1 : 1。

▲ 配制完毕，颠倒混匀10 - 15次，避免剧烈涡旋振荡；混匀后置于冰上，请在1 h内使用。

b. 按细胞板孔数加入对应体积的裂解工作液，移液器轻轻吸打8 - 10次充分混匀，室温静置5 min裂解细胞。

组分	体积					
细胞板	384孔	96孔	48孔	24孔	12孔	6孔
裂解工作液体积	25 μl	50 μl	100 μl	150 μl	250 μl	750 μl

c. 按下表加入FlysisAmp Cells Stop Buffer，移液器轻轻吸打8 - 10次混匀，室温静置2 min终止反应。

组分	体积					
细胞板	384孔	96孔	48孔	24孔	12孔	6孔
FlysisAmp Cells Stop Buffer	2.5 μl	5 μl	10 μl	15 μl	25 μl	75 μl ■
Total	27.5 μl	55 μl	110 μl	165 μl	275 μl	825 μl

▲ 裂解产物可直接用于后续实验，如逆转录、一步法RT-qPCR及RT-PCR等。

▲ 裂解产物可置于冰上保存2 h，若需长期保存需置于-80℃。

◇悬浮细胞：

1. 样本处理与准备

a. 去除培养基：将悬浮细胞转移至离心管中，1,000 rpm (930 × g) 4℃离心5 min收集至管底，去除培养基。

b. 洗涤细胞：加入预冷的1 × PBS (500 μl/10⁵个细胞)，用移液器轻轻吸打8 - 10次，无明显细胞团即可；1,000 rpm (930 × g) 4℃离心5 min收集至管底，去除PBS。

c. 稀释细胞：根据实验需求，用预冷的1 × PBS稀释细胞，将稀释后的细胞悬液分装至八联排中，每管5 μl (保持细胞数在10 - 10⁵个/管)，置于冰上备用。

▲ 去除培养基或PBS时动作应尽量轻缓，避免在清洗过程中造成细胞损失。

2. RNA获取

a. 配制裂解工作液

组分	体积		
细胞数	10 - 10 ³ 个	10 ³ - 10 ⁵ 个	10 ⁵ - 10 ⁶ 个
FlysisAmp Cells Lysis Buffer	24 μ l	46 μ l	184 μ l <input type="checkbox"/>
DNase I	1 μ l	2 μ l	8 μ l <input checked="" type="checkbox"/>
Enhancer Solution	-	2 μ l	8 μ l <input checked="" type="checkbox"/>
Total	25 μ l	50 μ l	200 μ l

▲ 配制完毕，颠倒混匀10 - 15次，避免剧烈涡旋振荡；混匀后置于冰上，请在1 h内使用。

- b. 按下表向分装好的细胞样本中加入对应的裂解工作液，移液器轻轻吸打8 - 10次充分混匀，室温静置5 min裂解细胞。

组分	体积		
细胞数	10 - 10 ³ 个	10 ³ - 10 ⁵ 个	10 ⁵ - 10 ⁶ 个
裂解工作液	25 μ l	50 μ l	200 μ l
Total	30 μ l	55 μ l	205 μ l

- c. 按下表加入FlysisAmp Cells Stop Buffer，移液器轻轻吸打8 - 10次混匀，室温静置2 min终止反应。

组分	体积		
细胞数	10 - 10 ³ 个	10 ³ - 10 ⁵ 个	10 ⁵ - 10 ⁶ 个
FlysisAmp Cells Stop Buffer	2.5 μ l	5 μ l	20 μ l <input checked="" type="checkbox"/>
Total	32.5 μ l	60 μ l	225 μ l

▲ 裂解产物可直接用于后续实验，如逆转录、一步法RT-qPCR及RT-PCR等。

▲ 裂解产物可置于冰上保存2 h，若需长期保存需置于-80℃。

09/常见问题与解决方案

常见问题	原因	解决方案
后序qPCR或PCR无扩增产物或产量较低	1. 细胞裂解不充分	1. 裂解工作液添加较少：按照说明书推荐的细胞数、孔板数进行反应 2. 裂解时未将细胞与裂解液工作液混匀：添加裂解工作液时，将吸头伸入液面下加样，添加后直接用移液器吸打8 - 10次混匀
	2. Stop Buffer未添加或未混合均匀	添加Stop Buffer时，将吸头伸入液面下加样，添加后直接用移液器吸打8 - 10次混匀
	3. 细胞投入量较少或裂解产物投入量较少	在推荐细胞投入量范围内适当提升细胞投入量或增加裂解产物投入量
	4. 细胞投入量过多，过多的细胞内容物抑制后续的扩增反应	根据推荐细胞投入量进行实验
	5. 样本中本身不含有靶标基因或表达量本身较低	提高细胞投入量检测或调整扩增体系
	6. 冻存细胞在冻存后使用PBS进行漂洗	冻存后细胞已破裂，PBS洗涤会造成RNA损失；建议重新培养细胞再进行实验

RNA降解	1. RNA在操作前已降解	新鲜细胞处理后及时放置于冰上，避免长时间在室温放置
	2. 裂解产物在室温放置时间过久，导致RNA降解	不要让裂解产物在室温下静置超过20 min，在冰上放置不超过2 h，及时进行后续试验或将裂解产物冻存于-80℃
	3. 细胞投入量过多，内源性RNase降解RNA	减少细胞投入量，根据推荐细胞投入量进行实验
基因组DNA残留较多	1. 细胞投入量较高	细胞投入量<10 ⁶ 个细胞
	2. 裂解时间过短	适当延长裂解时间，但不超过10 min



Nanjing Vazyme Biotech Co.,Ltd.

Web: www.vazyme.com

Tel: +86-400-600-9335

Sales: sales@vazyme.com

Support: support@vazyme.com

