

Version: AC 5.0 (2024.02.22修订)

# SparkZol Reagent LS

## (溶液型)

目录号: AC0102

### 01/产品组分

| 序号 | 组分          | AC0102 |
|----|-------------|--------|
| 1  | SparkZol LS | 100 mL |

### 02/保存条件

SparkZol LS试剂应在2-8℃条件下存放。

### 03/产品概述

SparkZol LS 适用范围广泛，实验操作快速方便，颜色鲜明，便于分层。可以从人、动植物、酵母、细菌和病毒的液体样品中提取总 RNA，也可以从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中提取总 RNA。该方法对少量的组织（50-100 mg）和细胞（ $5 \times 10^6$ ）以及大量的组织（ $\geq 1$  g）和细胞（ $> 10^7$ ）均有较好的分离效果。

SparkZol LS 试剂能促进不同种属不同分子量大小的多种 RNA 的析出。该产品可在一个小时之内完成样品 RNA 的提取，提取的总 RNA 完整性好，无蛋白和基因组 DNA 污染，可用于各种分子生物学常规实验，如 RT-PCR、Real-time RT-PCR、Northern blot、Dot Blot、体外翻译等下游实验。

### 04/自备材料

氯仿、异丙醇（新开封或提取 RNA 专用）、75%乙醇（用 DEPC 处理过的水配制）、RNase Free H<sub>2</sub>O 或者 DEPC 处理过的水

## 05/注意事项

### 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 样品用 SparkZol LS 匀浆后，置于-70℃下可放置一个月以上。
- ◇ 若下游实验对 DNA 非常敏感，建议用 RNase Free DNase I 对 RNA 进行处理。
- ◇ 当抽提的 RNA 用 TE 稀释时其 A260/A280 比值 $\geq 1.8$ 。注意如果是普通琼脂糖凝胶电泳，28S 的位置大约在 2 kb，18S 大约在 1 kb 的位置，不同浓度的凝胶位置变化较大。
- ◇ 用 SparkZol LS 抽提 RNA 时要戴手套和护眼罩，避免接触皮肤和衣服；在化学通风橱内完成操作，避免呼吸道吸入。如无特殊说明，所有的操作应该在 15-25℃的室温条件下。

## 06/使用方案

### 1. 匀浆

- ◆生物液体：每0.25 mL液体样品（血清、血浆、脑脊液等）加入0.75 mL SparkZol LS，用加样枪吹打液体样品几次以帮助裂解样品中细胞。每 $5-10 \times 10^6$ 个细胞至少加入0.75 mL SparkZol LS。SparkZol LS和液体样品的终体积比总是3：1。
- ◆动物组织：用glass或强力匀浆器搅匀组织样品，每50-100 mg组织或者0.25 mL组织悬液加0.75 mL的SparkZol LS。一般50-100 mg组织体积都要小于0.25 mL，如果组织样品的体积小于0.25 mL，加入灭菌水将组织样品体积调整到0.25 mL以保证体积比例是3：1。
- ◆单层生长细胞：直接往直径3.5 cm的培养板中加入0.3 mL-0.4 mL的SparkZol LS裂解细胞，用加样枪吹打帮助充分裂解细胞。SparkZol LS的加入量应根据培养板的面积计算，而不是依据细胞的数量，每10 cm<sup>2</sup>加0.3-0.4 mL。不需要往裂解物里面加水，因为培养板中附着残留的培养液已经充分稀释了SparkZol LS。  
▲贴壁培养细胞往往不能完全从培养瓶（皿）脱落，这并不意味着裂解不完全，此时细胞膜实际已经完全破裂开，并已释放出RNA，继续做即可。
- ◆细胞悬液：通过离心来沉淀细胞。在SparkZol LS试剂中用移液管反复吹打来裂解细胞。每 $5-10 \times 10^6$ 的动物细胞、植物或酵母菌细胞或每 $1 \times 10^7$ 细菌加0.75 mL的SparkZol LS。用灭菌水调节样品体积到0.25 mL。在加入SparkZol LS前应避免洗涤细胞，因为那样会增加mRNA降解的可能性。破裂某些酵母菌和细菌可能需要使用匀浆器。
- ◆植物组织：取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在SparkZol LS中迅速研磨，每50-100 mg组织加入0.75 mL SparkZol LS，用灭菌水调节样品体积到0.25 mL，混匀。

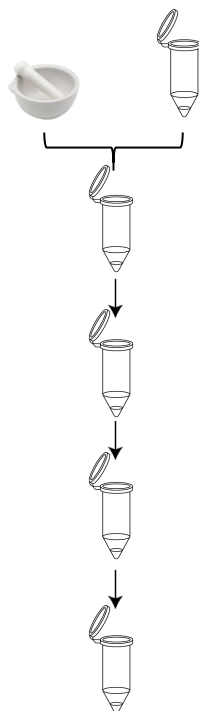
2. 将匀浆样品剧烈震荡后在室温条件下放置5 min以使核蛋白体完全解离。

3. 可选步骤：在4℃ 12,000 rpm（13,400×g）离心10 min，取上清。

▲如样品中含有较多蛋白质、脂肪、多糖或肌肉，植物的块茎结节等可离心去除。离心后的沉淀中包含有细胞外膜，多糖，以及高分子量DNA，上清中含有RNA。处理脂肪组织的样品时，上层是大量油脂应除去。取澄清的匀浆液进行下一步。

4. 每0.75 mL SparkZol LS加0.2 mL氯仿。盖紧管盖，剧烈震荡15 s并将其在室温下放置2-3 min。
5. 在4°C 12,000 rpm (13,400×g) 高速冷冻离心10-15 min。离心后混合物分成三层：下层有机苯酚氯仿层，中间层，上层无色的水样层。RNA无一例外地存在于水样层当中。水样层的容量大约为所加SparkZol LS容量的70%。
6. 将水样层转移到一干净的离心管中，加入等体积异丙醇。颠倒混匀后室温放置10 min。  
▲RNA沉淀在离心前通常不可见，离心后在管侧和管底形成胶状沉淀。
7. 在室温或者4°C 12,000 rpm (13,400×g) 离心10 min，弃上清。
8. 加入75%乙醇洗涤沉淀。每使用0.75 mL SparkZol LS用1 mL 75%乙醇对沉淀进行洗涤。
9. 在室温或者4°C 12,000 rpm (13,400×g) 离心3 min，弃上清。  
▲剩余的少量液体可短暂离心，然后用枪头吸出，注意不要吸弃沉淀。
10. 室温放置2-3 min，晾干。加入30-100 μL RNase Free H<sub>2</sub>O，充分溶解RNA，得到的RNA保存在-70°C，防止降解。  
▲沉淀不要过分干燥，以免难于溶解。

## 07/流程简图



裂解：0.25 mL液体样品，0.75 mL **SparkZol LS**  
室温5 min；4°C，13400×g离心10 min，取上清（可选步骤）

分层：0.2 mL氯仿，室温2-3 min  
4°C，13,400×g离心10-15 min  
取上清

沉淀：等体积异丙醇，室温10 min  
室温或4°C，13,400×g离心10 min，弃上清

洗涤：1 mL 75%乙醇  
室温或者4°C，13,400×g离心3 min，弃上清

溶解：室温晾干2-3 min  
30-100 μL RNase Free H<sub>2</sub>O，储存于-70°C

## 08/相关产品

AC0101 SparkZol Reagent

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](mailto:support@sparkjade.com)

