

Version: AC 3.2 (2021.04.01修订)

SparkZol Reagent

(溶液型)

目录号: AC0101

01/产品组分

序号	组分	AC0101-A	AC0101-B
1	SparkZol	100 mL	200 mL

02/保存条件

SparkZol试剂应在2-8℃避光条件下存放。

03/产品概述

SparkZol 是广谱型总 RNA 提取试剂。实验操作快速方便，颜色鲜明，便于分层。本试剂适用范围广泛，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 (5×10^6) 以及大量的组织 (≥ 1 g) 和细胞 ($> 10^7$) 均有较好的分离效果。

SparkZol 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。

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)
水稻叶片	1 g	100-200 μ g	1.8-2.0
大鼠肝脏	1 mg	6-10 μ g	1.8-2.0
培养细胞	10^6 cells	5-10 μ g	1.8-2.0
大肠杆菌	1 mL	2-10 μ g	1.8-2.0
人类全血	1 mL	3-5 μ g	1.8-2.0

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 H₂O 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 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≥1.8。注意如果是 1%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 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. 样本处理：

∪ 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 中迅速研磨，每 50-100 mg 组织加入 1 mL SparkZol，混匀。

▲ 样品体积一般不要超过 SparkZol 体积的 10%。

∪ 动物组织：取新鲜或-70℃冻存动物组织，尽量剪碎，每 30-100 mg 组织加入 1 mL SparkZol，匀浆仪进行匀浆处理；或在液氮中研磨后加入 1 mL SparkZol 混匀。

▲ 样品体积一般不要超过 SparkZol 体积的 10%。

∪ 单层培养细胞：尽量去除干净残留培养液后直接往直径 3.5 cm 的培养板中加入 1 mL 的 SparkZol 覆盖并反复吹打裂解细胞。SparkZol 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 cm² 加 1 mL。当 SparkZol 量不足时可导致基因组 DNA 残留。

▲ 贴壁培养细胞往往不能完全从培养瓶（皿）脱落，但细胞膜实际已经完全破裂开，并已释放出全部 RNA。

∪ 细胞悬液：离心收集细胞。在 SparkZol 试剂中用移液枪反复吹打来裂解细胞。每 5-10×10⁶ 的动物细胞、植物、酵母菌细胞或每 1×10⁷ 细菌加 1 mL 的 SparkZol。在加入 SparkZol 前应避免洗涤细胞，降低 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。

∪ 血液：推荐使用本公司的 SparkZol Reagent LS（货号：AC0102），全血或者液体样品专用的 SparkZol Reagent。

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：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1 mL SparkZol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) 的离心力高速冷冻离心10-15 min。离心后混合物分成三层：下层红色有机苯酚氯仿层，中间层，上层无色的水样层。RNA存在于水样层。水样层的容量大约为所加SparkZol容量的50-60%。
 6. 将水样层转移到干净的RNase Free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. 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1 mL SparkZol用1 mL 75%乙醇对沉淀进行洗涤。
 9. 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 H₂O，充分溶解RNA，得到的RNA保存在-70°C，防止降解。

▲注意：沉淀不要过分干燥，以免难于溶解。

07/流程简图



08/相关产品

AC0102 SparkZol Reagent LS

AC1711 DNase I (RNase Free)

AG0304 SPARKscript II RT Plus Kit (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

