

# AIPzol Total RNA Extraction Reagent(No Chloroform)

AIPzol 总 RNA 提取试剂(免氯仿)

## 使用说明书

◆目录号: RE205

◆试剂盒组成:

试剂盒组成	保存	RE205-02
AIPzol	RT 或 4°C(避光)	200T/100mL

◆**储存事项:** AIPzol 在室温下能稳定保存 12 个月。尽管如此, 为达到最佳效果, 我们建议保存在 2~8°C 的环境下, 2~8°C 能稳定保存 24 个月。

◆**重要提示** 本品中含有苯酚, 具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会导致中毒、灼伤以及其他身体伤害。使用本制品时应穿戴防护物品, 如防护服装、手套、眼罩、面罩等。如果不小心接触, 应立即用大量的水冲洗并前往医院治疗。

◆**产品介绍:** AIPzol 是传统 TRIzol 的免氯仿升级版, 广泛适用于从各类动物组织、植物材料、培养细胞、细菌等样品中提取 Total RNA 和 Small RNA。与传统 TRIzol 提取方法相比, 本产品不需要使用氯仿进行分层, 操作更简单, 且全程可在常温进行。本产品提取的 RNA 基本不残留 DNA, 提取的 RNA 可以直接用于 cDNA 克隆、qRT-PCR 检测、mRNA 纯化、体外翻译、Northernblotting 杂交、高通量测序等各种分子生物学实验。

◆**注意事项:**

1. 自备试剂: 异丙醇(新开封或提取 RNA 专用)、75% 乙醇(用 RNase-free Water 配制)、RNase-free Water 或者 DEPC 处理过的水。
2. RNA 最重要的指标就是没有降解且完整性高, 目前普通的分光光度计包括 Nanodrop 是无法通过测量 OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 和 OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 来确认 RNA 是否降解的。判断 RNA 是否降解, 可以通过跑 1% 琼脂糖电泳检测, 通过直接观察 28S:18S 比值来判断是否降解, 或者采用安捷伦 Bioanalyzer 2100 仪器检测, 测定 RNA 产物的 RIN 值。
3. AIPzol 与传统 TRIzol 一样属于通用型总 RNA 提取试剂, 具有和 TRIzol 类似的适用范围。绝大部分常规动物组织细胞(如肝脏、肾脏、脑组织、培养细胞)、简单植物组织(如水稻、玉米、拟南芥、烟草、小麦等)都有良好效果。但是对于多糖多酚植物如棉花, 某些难破壁的细菌等样品不适用。

◆**RNA 抽提操作步骤(实验前请先阅读注意事项):**

**提示** 用 AIPzol 抽提 RNA 时, 请佩戴手套、口罩和护眼罩, 避免接触皮肤和衣服, 实验操作应在化学通风橱完成操作, 避免呼吸道吸入。如无特殊说明, 所有的操作应该在 15~30°C 的室温条件下进行。

1. 样本处理

**a. 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 AIPzol 中迅速研磨, 每 25 - 50 mg 组织加入 0.5mL AIPzol, 混匀。

**b. 动物组织:** 取新鲜或-70°C冻存动物组织尽量剪碎, 每 15 - 50 mg 组织加入 0.5mL AIPzol, 匀浆仪进行匀浆处理; 或在液氮中研磨后加入 0.5mL AIPzol, 混匀。

**c. 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 0.5mL AIPzol 覆盖并反复吹打裂解细胞。依据培养板的面积而不是依据细胞的数量来决定所需的 AIPzol 量(每 10 cm<sup>2</sup> 加 0.5mL)。当 AIPzol 量不足时可导致抽提的 RNA 中有污的 DNA。

**▲注:** 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, 并已释放出全部 RNA, 继续做即可。

**d. 细胞悬液:** 离心收集细胞。在 AIPzol 试剂中用移液管反复吹打来裂解细胞。每 1 - 5×10<sup>6</sup> 的动物细胞, 植物细胞或每 5×10<sup>6</sup> 细菌加 0.5mL AIPzol 试剂。在加 AIPzol 试剂前应避免洗涤细胞, 因为那样会增加 mRNA 降解的可能性。破裂某些细菌可能需要使用匀浆器。

**e.液体样本** 每 200 $\mu$ L(低于 200 $\mu$ L 时, 可用 RNase-free Water 补足)血浆、血清等液体样本, 加入 0.5mL AIPzol 试剂后振荡、混匀。

2. 向上述裂解液中加入 2/5 体积的 RNase-free Water(每 500 $\mu$ L AIPzol 试剂加 200 $\mu$ L 水), 剧烈振荡、混匀, 室温静置 5 min。

**▲注:** 当处理样本量较大 50 mg 左右时, 可延长室温静置时间到 10 - 15 min。

3. 室温 12,000 rpm 离心 15 min。

4. 离心后溶液分成上层水相(含 RNA)和下层沉淀(含蛋白质、DNA、多糖等杂质), 小心吸取上层水相至一个新的无酶离心管中。

**▲注:** 上层水相约占总体积的 90%, 如用 500 $\mu$ L AIPzol 试剂进行提取, 上层水相约为 630 $\mu$ L, 建议吸取 500 $\mu$ L; 提取微量样本时, 为减少 RNA 损失, 可以全部转移上清。

**▲注:** 当样本量较小时, 离心后可能不会出现下层沉淀, 属于正常现象, 可继续按后续步骤完成提取。

5. 加入等体积异丙醇, 颠倒混匀, 室温静置 10 min。

6. 室温 12,000 rpm 离心 10 min, 通常可以看见白色沉淀, 小心弃去上清。

**▲注:** RNA 沉淀在离心前通常不可见, 离心后在管侧壁和管底形成薄片状沉淀(样品量少的情况下, RNA 沉淀散在管侧壁和管底有可能看不到明显沉淀)。部分组织材料由于含有较多的代谢产物, 导致沉淀不能聚集而分散在离心管壁上, 此时, 请沿液面缓慢吸取上清。

7. 加入 1mL 75%乙醇(RNase-free ddH<sub>2</sub>O 配制)漂洗, 涡旋震荡 15 sec, 让沉淀悬浮起来, 并上下颠倒数次。

8. 室温 12,000 rpm 离心 3 min, 小心弃上清。

9. 重复步骤 7 和 8 漂洗一遍, 小心弃尽上清。

**▲注:** 为减少杂质残留, 应尽可能的将上清弃干净。建议弃去大部分上清后, 短暂点甩离心将残留液体甩至管底, 用无酶的 200 $\mu$ L 吸头吸尽残留的液体, 保留管底及管侧壁的白色 RNA 沉淀。

10. 室温晾干约 1 min, 在加入适量的 RNase-free ddH<sub>2</sub>O 溶解沉淀, 室温涡旋 3 min(或使用移液器反复吹打管底和管壁的沉淀帮助溶解), 使 RNA 沉淀充分溶解。提取的 RNA 产物可以分装后在 -85 至 -65 $^{\circ}$ C 长期保存, 在 -30 至 -15 $^{\circ}$ C 仅可短期保存。

**▲注:** 一般稍稍晾干 RNA 即可, 过度干燥会导致 RNA 难于溶解。

**▲注:** 从某些样本提取 RNA 时, RNA 沉淀并非完全聚集在离心管管底, 也会以均匀的薄雾状沉淀吸附在管侧壁上, 请注意仔细观察, 并用移液器吹打管底和沉淀所在的管侧壁充分溶解所有的 RNA。

=====



扫码关注