AIPzol 总 RNA 提取试剂(免氯仿)

AIPzol Total RNA Extraction Reagent(No Chloroform)

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，应立即用大量的清水冲洗，严重的请立即前往医院治疗。

◆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、Northern blotting 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_{260}/OD_{280} 和 OD_{260}/OD_{230} 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^2 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 - 5×10^6 的动物细胞，植物细胞或每 5×10^6 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 200μL(低于 200μL 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 500μL AIPzol 试剂加 200μL 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 500μL AIPzol 试剂进行提取，上层水相约为 630μL，建议吸取 500μL；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_2O 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 200μL 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_2O 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°C 长期保存，在- 30 至- 15°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。

==========

扫码关注我们