

AipPure 通用植物总 RNA 快速提取试剂盒, TRIzol 法(离心柱型)
AipPure Universal Plant Total RNA Rapid Extraction Kit, TRIzol(Centrifugal Column)

使用说明书

◆目录号：RE204

◆试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	50 次(RE204-01)
裂解液 RL	4°C(避光)	50mL
去蛋白液 RE	室温	25mL
漂洗液 RW	室温	10mL 第一次使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free Water	室温	10mL
吸附柱 RA 和 2mL 收集管 (RNase-free)	室温	50 套

◆储存

温度：本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

◆储存事项：

1. 因此运输和储存均在室温下(15°C—25°C)进行。裂解液 RL 可以常温运输，收到后 4°C 避光可长期保存，常温保存 3 个月也不影响使用质量。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、PH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

◆**产品介绍：**改进的异硫氰酸胍/酚一步法(TRIzol 法)裂解细胞和灭活 RNA 酶，然后总 RNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，去蛋白液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后低盐的 RNase-free Water 将纯净 RNA 从硅基质膜上洗脱。

◆产品特点：

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口世界著名公司特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。
2. 结合了异硫氰酸胍/酚一步法试剂稳定性好，纯度高和离心柱方便快捷的优点，不需要异丙醇沉淀和乙醇洗涤过程，RNA 可以直接从离心柱上洗脱避免了过度干燥

不易溶解问题。

3. 独有的裂解液 RL 配方，可以有效的消除基因组污染。
4. 多次漂洗去蛋白过程，提取 RNA 纯度更高。
5. 有效的去除了 5S 在总 RNA 中含量，提高了纯度。

◆**注意事项:**

1. 第一次使用前请先在漂洗液RW瓶中加入指定量乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入!
2. 本试剂盒抑制RNA酶效果极佳，所有离心步骤如未加说明，均可在常温进行。
3. 裂解液RL和去蛋白液RE中含有刺激性有害化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
4. 考虑到环保问题，本试剂盒不含有实验室常用试剂氯仿，使用前需要自备氯仿。
5. 常规的琼脂糖凝胶电泳和变性胶电泳均可以用来分析RNA的质量。好的RNA产物在电泳后应该可以看到明显的二条优势核糖体RNA带，分别为~2Kb(28S)，~1Kb(18S)，条带亮度比值约为2: 1。有时候也可以看到~0.1kb和0.3Kb(5S, tRNA)带。但有时候根据不同的物种如某些植物组织可以看到4, 5条带也属于正常现象，如果RNA未成熟的前体或者不均一核RNA、小核RNA提取出来也可能看到介于7Kb和15Kb之间的不连续的高分子量条带。
6. 检测OD₂₆₀/OD₂₈₀吸光度比值时，如需稀释RNA样品应该用TE(PH 8)，如果用水稀释后检测，由于一般水离子强度和PH值低，会使OD₂₈₀升高，从而使比值降低。
7. 加入裂解液RL匀浆后，加氯仿前，样品可在 -60°C-70°C 保存一个月以上。

◆**操作步骤(实验前请先阅读注意事项):**

提示: 第一次使用前请先在漂洗液RW瓶加入指定量乙醇!

1. 取1mL裂解液RL，转入1.5mL离心管中，备用。
2. 液氮中研磨适量植物组织成细粉后，取60-100mg细粉转入上述装有裂解液RL的离心管，立即用手剧烈振荡20秒充分裂解(可以手动或者电动匀浆提高产量)。
3. 将匀浆样品剧烈震荡混匀，在15-30°C条件下孵育5分钟以使核蛋白体完全分解。
4. **可选步骤(一般不需要):** 12,000rpm 离心10分钟，小心取上清转入一个新的RNase-free的离心管中。当样品中富含多糖或是植物的块茎部分时可能需要此额外的分离步骤。
5. 每1mL 裂解液RL加0.2mL氯仿。盖紧样品管盖，剧烈振荡15秒并将其在室温下孵

育3分钟。

6. 于4°C 12,000rpm 离心10分钟，样品会分成三层：下层有机相，中间层和上层无色的水相，RNA存在于水相中。水相层的容量大约为所加裂解液RL体积的50%，把水相转移到新管中，进行下一步操作。
7. 加入水相体积一半也就是0.5倍体积的无水乙醇，混匀(此时可能会出现沉淀)。得到的溶液和可能沉淀一起转入吸附柱RA中(吸附柱套在收集管内，若一次不能将全部溶液和混合物加入吸附柱RA中，请分两次转入吸附柱RA中)。
8. 12,000rpm 离心45秒，弃废液，将吸附柱重新套回收集管。
9. 加500μL 去蛋白液RE，12,000rpm 离心45秒，弃掉废液。
10. 加入500μL漂洗液RW(请先检查是否已加入无水乙醇!)，12,000 rpm 离心45秒，弃掉废液。
11. 重复步骤10一次。
12. 将吸附柱RA放回空收集管中，13,000 rpm离心2分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
13. 取出吸附柱RA，放入一个RNase-free离心管中，根据预期RNA产量在吸附膜的中间部位加50-80μL RNase-free Water，室温放置2分钟，12,000 rpm 离心1分钟。如果需要较多RNA，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，离心1分钟,或者另外再加30μL RNase-free Water，离心1分钟，合并两次洗脱液。

注 洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要RNA浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积最好不少于30μL，体积过小降低RNA洗脱效率，减少RNA产量。

=====

