

AIPzol 通用型总 RNA 快速提取试剂盒,免氯仿(离心柱型)
AIPzol Universal Total RNA Rapid Extraction Kit(Centrifugal Column)

使用说明书

◆版本号：231205

◆目录号：RE206

◆试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	100 次 (RE206-01)	200 次 (RE206-02)
AIPzol	4°C(避光)	50mL	100mL
去蛋白液 PE	室温	32mL	64mL
漂洗液 RW	室温	25mL 第一次使用前按说明加指定量乙醇	50mL
RNase-free Water	室温	10mL	20mL
吸附柱 RA 和 2mL 收集管 (RNase-free)	室温	100 套	200 套

◆**储存温度：**常温运输和储存，保质期 12 个月。

◆**储存事项：**

1. 本试剂盒常温运输和储存，12 个月不影响使用质量。AIPzol 建议收到产品后 4°C 避光保存，保质期 2 年不影响使用效果。
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：**

1. 本试剂盒是普通柱式 TRIzol 法提取试剂盒的升级版，其中 AIPzol 组分是传统 TRIzol 的免氯仿升级版，并配套了离心柱技术，经过多次漂洗去除各种杂质，简化了实验操作，并最大限度得到高纯度的 RNA。可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。
2. 本试剂盒中 AIPzol 组分与传统柱式试剂盒中 TRIzol 组分提取方法相比，本产品不需要使用氯仿进行分层，操作更简单便捷，且全程操作可在常温进行，同时 AIPzol 去除 DNA 能力比传统 TRIzol 更强大，提取得到的 RNA 纯度更高，基本无 DNA 残留污染。

3. 本试剂盒不需要 DNA 酶柱上消化，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。

◆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的特制吸附膜，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 AIPzol 配方，可以有效的消除基因组 DNA 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 RNA 纯度。

◆注意事项:

1. 第一次使用前请按照组分标签瓶提示，先在漂洗液RW瓶和去蛋白液PE瓶中加入指定量无水乙醇，加入后请及时打钩标记已加入无水乙醇，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. AIPzol和去蛋白液PE中含有刺激性有害化合物，操作时要配戴乳胶手套，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. 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。
5. 加入AIPzol匀浆后，加水离心前样品可在-60℃至-70℃保存一个月以上。
6. 若提取细菌样本RNA，推荐使用爱普科学的AipEasy Plus 细菌RNA快速提取试剂盒(目录号: RE261)。

◆操作步骤(实验前请先阅读注意事项):

提示 第一次使用前请按照组分标签瓶提示，先在漂洗液RW瓶和去蛋白液PE瓶中加入

指定量无水乙醇!

1. 样本处理

动物组织:	取新鲜或-70℃冻存动物组织尽量剪碎, 每15-50mg组织样本加入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。
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25-50mg组织加入0.5mL AIPzol, 混匀。
贴壁细胞:	尽量去除干净残留培养液后, 直接往直径3.5cm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加入量(每10cm ² 加0.5mL)。当AIPzol量不足时可导致抽提的RNA中污染含有DNA。 注意: 贴壁培养细胞往往不能完全从培养瓶(皿)脱落, 但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, 实验继续做即可。
悬浮细胞:	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。在加入AIPzol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。
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加200μL水), 剧烈振荡混匀, 室温静置5 min。

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

3. 室温12,000rpm 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离心管中。

注意: 上层水相约占总体积的90%, 如用500μL AIPzol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。

注意: 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)。得到的溶液和可能的沉淀转入吸附柱RA中(吸附柱套在收集管内, 12,000rpm 离心30 sec, 弃废液, 将吸附柱重新套回收集管。

注意: 吸附柱容积为750μL, 若混合液超过该体积, 请分多次进行上柱。请弃废液后将吸附柱放回收集管, 继续转入剩余混合物到吸附柱RA中离心。

6. 加500 μ L去蛋白液PE(请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心30 sec, 弃废液。
7. 加入500 μ L漂洗液RW(请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心30 sec, 弃废液。
8. 重复步骤7一次。
9. 将吸附柱RA放回空收集管中, 12,000rpm离心2 min, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 将吸附RA转移至一个新的1.5mL离心管中, 向吸附柱膜中间部位悬空滴加40-60 μ L的RNase-free Water, 静置1 min, 12,000rpm 离心1 min。如果需要提高RNA产物浓度, 可将RNase-free Water于90 $^{\circ}$ C预热; 也可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 离心1 min进行洗脱。如果需要提高RNA产物获取量, 可再加30 μ L RNase-free Water, 离心1 min, 合并两次洗脱液。

注 洗脱体积越大, 洗脱效率越高, RNA产量越高, 但是浓度将会降低。如果需要RNA浓度较高, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小洗脱体积建议最好不少于30 μ L, 体积过小会降低RNA洗脱效率, 减少RNA产量。

=====



扫码关注我们