版本号:231206

AIDpure Total RNA Kit

AIDpure 高纯总 RNA 快速提取试剂盒(免氯仿)

目录号：RN70

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	50 次(RN7001)	100 次(RN7002)
AIDzol Reagent（4℃避光）	25 ml	50 ml
去蛋白液 PE	16 ml 第一次使用前按标签说明加指定量乙醇	32 ml
漂洗液 RW	10 ml 第一次使用前按标签说明加指定量乙醇	25 ml
RNase-free H_2O	10 ml	10 ml
RNase-free 吸附柱 RA	50 个	100 个
收集管（2ml）	50 个	100 个

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℃-25℃）进行。AIDzol Reagent 可以常温运输，收到后 **4℃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：

AIDzol 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。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，同时 AIDzol 去除 DNA 能力比传统 Trizol 强大，得到的 RNA 无 DNA 污染，不需要 DNA 酶消化就可以直接用于下游实验。本产品配套了离心柱技术，经过多次漂洗去除各种杂质，简化了实验操作，并最大限度得到最纯净的 RNA。

❖ 产品特点：

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用特制吸附膜，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 AIDzol Reagent 配方，可以有效的消除基因组 DNA 残留。
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瓶和去蛋白液PE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. AIDzol Reagent和去蛋白液PE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. 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AIDzol Reagent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RNA，推荐EASYspin系列细菌RNA提取试剂盒（目录号：RN43）。

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

提示：第一次用前请先在漂洗液RW瓶和去蛋白液PE瓶中加入指定量无水乙醇!

1. **样本处理**

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 AIDzol 中迅速研磨，每25 - 50 mg组织加入0.5 ml AIDzol，混匀。

b. 动物组织：取新鲜或-70℃冻存动物组织尽量剪碎，每15 - 50 mg组织加入0.5 ml AIDzol，匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入0.5 ml AIDzol 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0.5 ml AIDzol 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AIDzol 量（每10 cm^2加0.5 ml）。当AIDzol 量不足时可导致抽提的RNA中污染有 DNA。

▲注意：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 AIDzol 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0.5 ml AIDzol。在加入AIDzol 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 μl（低于200 μl时，可用普通去离子水或者纯水补足）血浆、血清等液体样本，加入0.5ml AIDzol 后振荡混匀 。

2. 向上述裂解液中加入 2/5 体积的去离子水或者纯水（普通实验室用水即可，不需要 RNase-free ，每 500 μl AIDzol 加 200 μl 水)，剧烈振荡混匀，室温静置 5 min。

▲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离心管中。

▲上层水相约占总体积的90%，如用500 μl AIDzol 进行提取，上层水相约为630

μl，建议吸取500 μl；提取微量样本时，为减少RNA损失，可以全部转移上清。

▲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。

   ▲吸附柱容积为 750 μl，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 μl 去蛋白液 PE（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），12,000 rpm 离心 30 sec，弃废液。

7. 加入 500 μl 漂洗液 RW（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），12,000 rpm 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，12,000 rpm 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 转移至新的 1.5 ml 离心管中，向吸附柱膜中央悬空滴加 40 - 60 μl 的 RNase-free ddH_2O，静置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min。。

    ▲洗脱体积建议不少于 30 μl，体积过小会影响核酸回收效率。

    ▲以下步骤都可以帮助提高 RNA 产物浓度：

    RNase-free ddH_2O 于 90℃预热；

    将第一次洗脱液重新加入吸附柱进行洗脱。