



# RNAClean RNA 清洁纯化试剂盒

## RNAClean RNA Kit

### 产品信息:

试剂盒组成	保存	RA109-01
		50 次
结合液 RC	室温	20ml
漂洗液 RW	室温	10ml 第一次使用前按说明加指定量 乙醇
RNase-free H <sub>2</sub> O	室温	10 ml
RNase-free 吸附柱 RA	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	50 个

**保存条件:** 本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

### 储存事项:

- 1.所有的溶液应该是澄清的，如果环境温度低时溶液可能形成沉淀，此时不应该直接使用，可在 37℃ 水浴加热几分钟，即可恢复澄清。
- 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:

本试剂盒使用的离心吸附柱硅基质膜全部采用进口特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。在高盐条件下RNA 与硅胶吸附膜高效、专一地结合，同时最大限度除去蛋白质、无机盐离子和许多有机杂质等，在低盐条件下，RNA 被洗脱。可处理的RNA 样品量可高达50µg。本试剂盒用于从酶反应液（如DNaseI 处理、蛋白酶处理、RNA 标记等）中纯化回收RNA，也可用于从其它方式提取获得的RNA 的纯化。纯化的总RNA 没有蛋白的污染，所得的RNA 可用于Northern blot、mRNA 提取、cDNA合成、引物延伸、差异显示等。

### 操作步骤:

### 提示:

- ⇒ 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!
- ⇒ 以下所有步骤均可以在室温进行, 但是应该迅速操作, 减少 RNA 降解机会。
- 1. 冰上 RNA 样品加入 RNase-free water 补足至 100 $\mu$ l, 加入 350 $\mu$ l 溶液 RC, 混匀。
- 2. 加入 250 $\mu$ l 无水乙醇, 混匀, 无需离心。
- 3. 上一步所得溶液和可能有的沉淀一起转入吸附柱 RA 中(吸附柱套在收集管内), 4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm 离心 45sec, 弃掉收集管中的废液, 将吸附柱重新套回收集管。  
**如需去除 DNA 微量残留, 可在本步骤后进行 DNA 酶柱子上直接消化, 详见附录。**
- 4. 加 500 $\mu$ l 漂洗液 RW (请先检查是否已加入乙醇), 4 $^{\circ}$ C 12,000rpm 离心 45sec, 弃废液。
- 5. 加 500 $\mu$ l 漂洗液 RW, 4 $^{\circ}$ C 12,000rpm 离心 45sec, 弃废液。
- 6. 4 $^{\circ}$ C 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。
- 7. 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 50-80 $\mu$ l RNase free water (事先在 65 $^{\circ}$ C 水浴中加热效果更好), 室温放置 2min, 12,000 rpm 离心 1min。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 1min, 或者另外再加 30 $\mu$ l RNase free water, 离心 1min, 合并两次洗脱液。  
**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 30 $\mu$ l, 体积过小降低 RNA 洗脱效率, 减少 RNA 产量。**

### 附录: DNase I 柱上消化

本试剂盒还可以进行离心柱上 DNA 酶消化以去除 RNA 样品中微量 DNA 污染, 如果要进行严格的 mRNA 表达量分析如荧光定量 PCR, 可以购买各种商品化的 RNase free DNase 直接在离心吸附柱子 RA 上面消化 DNA, 然后纯净 RNA 可以洗脱下来直接使用。客户可根据需要向本公司购买去蛋白液 RW1。

### 以 Qiagen RNase free DNase set 举例 (qiagen 货号: 79254)

#### A: DNase I 储存液的配制:

将 DNase I 干粉 (1500 Kunitz 单位) 溶解在 550 $\mu$ l RNase-free 水中, 轻柔混匀, 分装后 -20 $^{\circ}$ C 贮存 (可保存 9 个月)。注意从 -20 $^{\circ}$ C 融化后的 DNase I 储存液保存于 4 $^{\circ}$ C (可保存 6 周), 不要再次冻存。

#### B: DNase I 工作液的配制:

取 10 $\mu$ l DNase I 储存液加 70 $\mu$ l RDD (产品中附带) 溶液, 轻柔混匀。

### 操作步骤:

1. 前面按照正常步骤操作，在步骤3完成后按照以下步骤操作。
2. 向吸附柱RA 中加入350 $\mu$ l去蛋白液RW1，12,000rpm离心30-60 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
3. 向吸附柱RA 中央加入80 $\mu$ l的DNase I 工作液，室温放置15 min。
4. 向吸附柱RA 中加入350 $\mu$ l去蛋白液RW1，12,000rpm离心30-60 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
5. 接漂洗液RW步骤等后续步骤。