



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 ₂ 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 μ l, 加入 350 μ l 溶液 RC, 混匀。
- 2. 加入 250 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ lRNase-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 μ l DNase I 储存液加70 μ 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 μ 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 μ l的DNase I 工作液，室温放置15 min。
4. 向吸附柱RA 中加入350 μ 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。