



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 第一次使用前加入 40ml 无水乙醇
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml
RNA 吸附柱	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	50 个
RNase-free 离心管 1.5ml	室温	50 个

保存条件: 本试剂盒在室温储存 18 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°C 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 100μl, 加入 350μl 溶液 RC, 混匀。

2.加入 250μl 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 RNA 吸附柱中(吸附柱套在收集管内), 4℃ 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 500μl 漂洗液 RW (请先检查是否已加入乙醇), 4℃ 12,000rpm 离心 45sec, 弃废液。

5.加 500μl 漂洗液 RW, 4℃ 12,000rpm 离心 45sec, 弃废液。

6.4℃ 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 RNA 吸附柱,放入一个 RNase free 离心管中,向吸附膜的中间部位加入 50-80 μl RNase free water (事先在 65℃ 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 30μl 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30μl, 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550μlRNase-free水中,轻柔混匀,分装后-20℃贮存(可保存9 个月)。注意从-20℃融化后的DNase I 储存液保存于4℃(可保存6 周,不要再次冻存。

B: DNase I 工作液的配制:

取10μl DNase I 储存液加70μl 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**RNA吸附柱**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**RNA吸附柱**中央加入80 μ l的DNase I 工作液，室温放置15 min。
- 4.向**RNA吸附柱**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。

对于 RNA 含量少 ($\leq 5 \mu\text{g}$) 的样品，可以选择购买本公司微量 RNA 吸附柱（货号：QA3101），此吸附柱最小洗脱体积为 5 μ l，可提高 RNA 的洗脱浓度，帮助后续实验的进行。

BM190701