

## RNA清洁纯化试剂盒

### KR205 50次

#### 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50次(KR205)
结合液 RC	室温	20 ml
漂洗液 RW	室温	10 ml 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 和收集管	室温	50 套

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°C 水浴加热几分钟, 即可恢复澄清。
2. 试剂长时间暴露于空气中会产生挥发、氧化、PH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

#### 产品介绍:

本试剂盒使用离心吸附柱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。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 50 μg。本试剂盒用于从酶反应液 (如 DNase 处理、体外转录、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、Dot blot、mRNA 提取、cDNA 合成、引物延伸、差异显示等。

## 注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温完成, 使用转速可以达到13,000 rpm的传统台式离心机。
2. 本试剂盒默认回收大于等于200 nt 的总RNA/mRNA, 但回收包括microRNA的小RNA样品 (还需要联系我们另外购买一些配套试剂), 用于包括microRNA等小片段RNA回收。
3. 如果是微量样品, 可以找我们选购超微量离心柱以回收微量样品

## 操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

⇒ **第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶中加入指定量乙醇。**

⇒ **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 H<sub>2</sub>O 补足至 100 μl, 加入 350 μl 结合液 RC, 混匀。
2. 加入 250 μl 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), 13, 000 rpm 离心 30 秒, 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 μl 漂洗液 RW (**请先检查是否已加入乙醇**), 13, 000 rpm 离心 30 秒, 弃废液。
5. 重复一遍步骤 4。
6. 13,000 rpm 离心 2 分钟, 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 50-80μl RNase free water (事先在 65-70°C 水浴中加热效果更好), 室温放置 2 分钟, 13, 000 rpm 离心 1 分钟。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 1 分钟, 或者另外再加 30μl RNase free H<sub>2</sub>O, 离心一分钟, 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。

### DNase I 工作液的配制:

取 45 $\mu$ l DNase I buffer 和 5 $\mu$ l RNase free DNase I 离心管轻轻吹打混匀成工作液 (处理多个离心柱子要按照比例放大制备工作液)。

注: 如果残留 DNA 过多导致消化不完全, 可按比例加大使用酶量来提高消化效果 (如 90 $\mu$ l DNase I buffer 和 10 $\mu$ l RNase free DNase I)。

### 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. 吸附柱 RA 中加入 350 $\mu$ l 去蛋白液 RW1, 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。
3. 吸附柱 RA 中央加入 50 $\mu$ l 的 DNase I 工作液, 室温 (20-30 $^{\circ}$ C) 放置 15 分钟。注意直接将工作液滴在膜中央上, 不要让工作液滴在 O 型圈或是离心柱管壁上。
4. 吸附柱 RA 中加入 350 $\mu$ l 去蛋白液 RW1, 13,000 rpm 离心 30-60 秒, 弃废液, 吸附柱放回收集管中。

接漂洗液 RW 步骤等后续步骤。如果是其它公司试剂盒, 则接最后的一个漂洗液漂洗等后续。