



北京艾德莱生物科技有限公司

Aidlab Biotechnologies Co., Ltd

- ◆ **RNAClean RNA 清洁纯化试剂盒**
 - ◆ 目录号 **RN14**
 - ◆ 使用手册
 - ◆ 实验室使用，仅用于体外
-

RNAClean RNA 清洁纯化试剂盒

目录号: **RN14**

目录编号	包装单位
RN1401	20次
RN1402	50次

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	20 次	50 次
结合液 RC	室温	8 ml	20 ml
漂洗液 RW	室温	5 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇	10 ml
RNase-free H₂O	室温	10 ml	10 ml
RNase-free 吸附柱 RA	室温	20 个	50 个
收集管 (2ml)	室温	20 个	50 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. 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DNase 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、Dot 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吸附柱 RA 中（吸附柱套在收集管内），4℃ 12,000 rpm 离心 45 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 0.5ml 漂洗液 RW（请先检查是否已加入乙醇），4℃ 12,000 rpm 离心 45 秒，弃废液。
5. 加 0.5ml 漂洗液 RW，4℃ 12,000 rpm 离心 45 秒，弃废液。
6. 4℃ 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℃ 水浴中加热效果更好），室

温放置 2 分钟, 12,000 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 30 μ l RNase free water, 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, 12,000 rpm 离心30-60 秒, 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 分钟。
4. 向吸附柱RA 中加入350 μ l 去蛋白液RW1, 12,000 rpm 离心30-60 秒, 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。