



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
RN1402	50次

### ❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次
结合液 RC	室温	20 ml
漂洗液 RW	室温	10 ml <i>第一次使用前按说明加指定量乙醇</i>
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

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. 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 30μl 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 $\mu$ 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RN3401 DNase I 柱上消化试剂盒举例 (艾德莱货号: RN3401)

##### 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. 向吸附柱 RA 中加入 350 $\mu$ l 去蛋白液 RW1, 12,000 rpm 离心 30 秒, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。
3. 向吸附柱 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. 向吸附柱 RA 中加入 350 $\mu$ 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。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步骤。