
版本号:250409

RNAclean RNA Clean Kit
RNAclean RNA 清洁纯化试剂盒

目录号: RN14**❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:**

试剂盒组成	50 次(RN1401)
结合液 RC	20 ml
漂洗液 RW	10 ml
	第一次使用前按瓶子标签指示加无水乙醇
RNase-free H ₂ O	5 ml
RNase-free 吸附柱 RA	50 个
收集管 (2 ml)	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. 本试剂盒常温运输保存。
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、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. 如果RNA样品很微量（诸如几百纳克这样的超微量样品），可以购买艾德莱超微量RNA清洁纯化试剂盒（艾德莱货号：RN7201）来回收微量样品。

❖ 操作步骤：

- ⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 RW 瓶中按照瓶子标签指示加入无水乙醇，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 结合液 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的沉淀一起转入吸附柱 RA 中（吸附柱套在收集管内），室温（以下步骤均为室温）13,000 rpm 离心 30 sec，弃掉废液，将吸附柱重新套回收集管。

▲如需去除微量 DNA 残留，可在本步骤后进行 DNA 酶柱子上直接消化，详情参见附录。

4. 加入 500 μ l 漂洗液 RW（请先检查是否已加入无水乙醇！），13,000 rpm 离心 15 sec，弃掉废液。
5. 重复一遍步骤 4。
6. 将吸附柱 RA 放回空收集管中，13,000 rpm 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. 将吸附柱 RA 转移至新的 1.5 ml 离心管中，向吸附柱膜中央悬空滴加 50–80 μ l 的 RNase-free ddH₂O，静置 2 min，13,000 rpm 离心 1 min。

▲洗脱体积建议不少于 30 μ l，体积过小会影响核酸回收效率。

▲以下步骤都可以帮助提高 RNA 产物浓度：

RNase-free ddH₂O 洗脱前于 90–100°C 预热；滴加至膜中后，室温静置 2–3 min 将第一次洗脱液重新加入吸附柱进行第二次洗脱。

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 DNase I 柱上消化试剂盒(艾德莱货号: RN3401)直接在吸附柱 RA 膜上消化 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 μ l DNase I buffer 和 5 μ 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 μ l DNase I buffer 和 10 μ 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 μ l 去蛋白液 RW1, 13,000 rpm 离心 30 sec, 弃废液,将吸附柱放回收集管中。
3. 向吸附柱 RA 膜中央加入 50 μ l 的 DNase I 工作液,室温(20-30°C)放置 15 min。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 μ l 去蛋白液 RW1, 13,000 rpm 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。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。

