

RNAsamples 清洁纯化试剂盒

货号: NG313S 50次
NG313M 100次

试剂盒组成:

试剂盒组成	保存	50 次	100 次
结合液 RC	室温	20 ml	50ml
去蛋白液 RE	室温	25ml	50ml
漂洗液 RW	室温	15ml	25ml
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
RNase-free H ₂ O	室温	10 ml	15ml
RNase-free 吸附柱 RA	室温	50 个	100 个
收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个

储存事项:

- 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。
- 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。

操作步骤:

- 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!
- 冰上 RNA 样品加入 RNase-free water 补足至 100 μ l, 加入 350 μ l 溶液 RC, 混匀。
- 加入 250 μ l 无水乙醇, 混匀, 无需离心。
- 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), 4°C 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。
- 加 500 μ l 漂洗液 RW (请先检查是否已加入乙醇), 4°C 12,000 rpm 离心 45 秒, 弃废液。
- 加 500 μ l 漂洗液 RW, 4°C 12,000 rpm 离心 45 秒, 弃废液。
- 4°C 12,000 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。
- 取出吸附柱 RA, 放入新 RNase free 离心管中, 根据预期 RNA 产量在吸附膜的中间部位加 50-80 μ l RNase free water, 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 1 min。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 min, 或者另外再加 30 μ l RNase free water, 离心 1 min, 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 DNase I 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。

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 500 μ l 去蛋白液 RE，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 μ 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 μ l 去蛋白液 RE，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。

