



北京博凌科为生物科技有限公司

Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.

Tel: 010-57158602/52872342/80773165 (Fax)

[Http://www.blkwbio.com/](http://www.blkwbio.com/)

E-mail: blkwbio@blkwbio.com

- ◆ **RNAclear RNA 清洁纯化试剂盒**
- ◆ **目录号 1114**
- ◆ **使用手册**
- ◆ **实验室使用，仅用于体外**

RNAClear RNA 清洁纯化试剂盒

目录号: 1114

目录编号	包装单位
111401	20次
111402	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	10 ml
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
RNase-free H ₂ O	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 50 μ g。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 100 μ l，加入 350 μ l 溶液 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有的沉淀一起转入吸附柱 RA 中（吸附柱套在收集管内），4 $^{\circ}$ 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。
 4. 加 0.5ml 漂洗液 RW（请先检查是否已加入乙醇），4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm 离心 45 秒，弃废液。
 5. 加 0.5ml 漂洗液 RW，4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm 离心 45 秒，弃废液。
 6. 4 $^{\circ}$ C 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 50-80 μ l RNase free water（事先在 65-70 $^{\circ}$ C 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DNase I 柱上消化试剂盒（货号：113401）举例

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 RW1，12,000 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 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。