AipPure RNA 清洁纯化试剂盒(离心柱型)

AipPure Enhanced RNA Purification Kit,With Small RNA(Centrifugal Column)

使 用 说 明 书

◆目录号：RE281

◆试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	50 次 (RE281-01)
结合液 RC	室温	20mL
漂洗液 RW	室温	10mL 第一次使用前按说明加指定量乙醇
RNase-free Water	室温	10mL
吸附柱 RA 和 收集管(2mL)	室温	50 套

◆产品储存：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℃ 12,000rpm 离心 45 秒，弃掉收集管中的废液，将吸附柱重新套回收集管。
   注：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℃ 12,000rpm 离心 45 秒，弃废液。
5. 加 0.5mL 漂洗液 RW，4℃ 12,000rpm 离心 45 秒，弃废液。
6. 4℃ 13,000rpm 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，12,000rpm 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。
   注：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 30μL，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 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。客户可根据需要向本公司购买去蛋白液 RW1。

◆以AipPure Dnase I 柱上消化试剂盒(RNase-free)举例(爱普科学货号：RE280)

***DNase I 工作液的配制：**取45μL DNase I Buffer和5μL 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：90μL DNase I Buffer和10μL 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 350μL 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 50μL 的 DNase I 工作液，室温(20-30℃)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 350μL 去蛋白液 RW1，12,000rpm 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。

==========

扫码关注我们