

操作手册

RNA 纯化浓缩试剂盒

Catalog No. TR117-50 (50 次反应 不带 DNase I)

TR117-200 (200 次反应 不带 DNase I)

Highlights

- 适用于从各种酶反应，相分离（添加完 TRIZOL 之后），提取好的总 RNA 中纯化和浓缩到 RNA(≥ 17 nt)。
- 25 μ l 的洗脱体积可以回收浓缩到高质量的 RNA, 得到的 RNA 可应用于逆转录，芯片，高通量测序等实验。
- 5 分钟内完成整个操作步骤。

Ver.1.1.0

产品组成:

| 试剂盒组成 | 保存 | 50 次 | 200 次 |
|-----------------------------|------|--------------------------|---------|
| RNA 结合液 | 室温 | 25 ml | 100 ml |
| RNA 预洗液 | 室温 | 25 ml | 100 ml |
| RNA 洗涤液 | 室温 | 12 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇 | 2x24 ml |
| DNase I | -20℃ | 250U | 4 X250U |
| DNA 消化液 | 室温 | 4 ml | 16 ml |
| RNase-free H ₂ O | 室温 | 6 ml | 10 ml |
| 2 号柱 | 室温 | 50 个 | 200 个 |
| 收集管 (2ml) | 室温 | 50 个 | 200 个 |

特性:

1. 样品来源: DNase I处理的RNA, 体外转录产物,TRIZOL等类似试剂裂解后的分离相, 其他粗提的RNA。
2. 样品范围: 17nt到23kb之间。
3. RNA纯度: 高质量的RNA可应用于, 逆转录, 芯片, 高通量测序等敏感的下流实验。
4. RNA结合量: 每个柱子可在25 μ l水中洗脱最多50 μ g的RNA。

试剂制备

RNA 洗涤液 在使用之前一定要配好, 添加好乙醇后在试剂瓶上做好标记!!!

添加 48ml 无水乙醇到 12ml 的 **RNA 洗涤液** 中

添加 96ml 无水乙醇到 24ml 的 **RNA 洗涤液** 中

DNase I 在使用之前添加 275 μ l 试剂盒自带的 RNase-free H₂O 配成溶液。

操作步骤:

所有离心操作的离心力均在10,000-16,000 x g范围内进行。≥17 nt的RNA将全部被回收。对于痕量DNA的去除，可以采用DNase I进行柱上消化的方法。

1. 添加2倍体积的RNA结合液到每1体积的样品中，混匀。（例如：100μl的RNA结合液添加到50μl的RNA样品中）
2. 添加等体积的（95-100%）无水乙醇到上述混合物中混匀（例如：150μl的无水乙醇添加到150μl的混合物中。）
3. 将上述混合物放入套在收集管上的1号柱子里，离心1分钟。去除滤出液。
4. 柱上DNase I消化处理（推荐）此步骤主要是为了去除痕量的DNA。
 - a) 添加400μl的RNA洗涤液2到1号柱里，离心1分钟。去除滤出液。
 - b) 对于每一次的样品处理需要制备40μl的DNase I反应液。配比为 DNase I 5μl DNA消化液 35μl
 - b) 直接添加混匀的40μl DNase I反应液到1号柱上，在室温下（20-30℃）孵育15分钟。
5. 添加400μl RNA预洗液到柱中，离心1分钟。去除滤出液。
6. 添加700μl RNA洗涤液到柱中，离心1分钟。去除滤出液。
7. 添加400μl RNA洗涤液到柱中，离心2分钟以确保不残留乙醇。去除滤出液。
8. 取出2号柱，放入一个无RNA酶的离心管中，在吸附膜的中间部位加25μl RNase-free water（事先在65-70℃水浴中加热效果更好），室温放置2分钟，离心1分钟洗脱RNA。

以下操作步骤针对从TRIZOL或我公司TRIcom等类似试剂的裂解物分离相中提取RNA:

1. 样品的裂解步骤参照TRIcom试剂说明书或其他公司说明书，在添加完氯仿之后，将上层的上清液转移到一个无RNA酶的离心管中。
2. 添加等体积的（95-100%）无水乙醇到上述离心管中，与上清液混匀。
3. 继续操作步骤的第三步进行后续操作。

针对不同片段的回收步骤:

所有离心操作的离心力均在10,000-16,000 x g范围内进行。每次纯化过程需要用到2个柱子。

1. 首先需要制备RNA结合液与（95-100%）无水乙醇的等体积混合物（例如：50 μ l的RNA结合液和50 μ l的无水乙醇混匀）。
2. 添加2倍体积的上述混合物到样品中混匀。（例如：添加100 μ l的混合物到50 μ l的样品中混匀。）
3. 将上述混合物放入套在收集管上的1号柱子里，离心1分钟。**不要倒掉滤出液。**
- 4.

范围在17nt-200nt之间的RNA在滤出液中。

- a. 添加1体积的无水乙醇并且混匀(例如：添加150 μ l的无水乙醇到150 μ l的样品中)
- b. 将混合物转移到一个新的柱子里，柱子套在一个收集管上，并且离心1分钟，去除滤出液。

大于200nt的RNA保存在柱子上。

直接进行下一步的操作步骤。

5. 添加400 μ l RNA预洗液到柱中，离心1分钟。去除滤出液。
6. 添加700 μ l RNA洗涤液到柱中，离心1分钟。去除滤出液。
7. 添加400 μ l RNA洗涤液到柱中，离心2分钟以确保不残留乙醇。去除滤出液。
8. 取出2号柱，放入一个无RNA酶的离心管中，在吸附膜的中间部位加25 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，离心1分钟洗脱RNA。