

RNA Purification Kit for in Vitro Transcription

说明书

Cat. No.: EZ5106

一、产品简介

本试剂盒采用离心柱法高效的去除酶、未掺入的NTP和缓冲液组分，分离纯化体外转录产物RNA。无需氯仿等有机试剂，具有简单快速、纯度高的特点。体外转录产物与结合液混合后，通过RNA结合离心柱，DNA酶处理，洗涤，洗脱即可释放出纯化的RNA。适用于任何需要高纯度RNA（合成或体外转录）的应用。在满足单链RNA > 100 nt，双链RNA > 200 bp的情况下，RNA的回收率可达70%或更高。本试剂盒含DNA酶处理步骤，获得的RNA不含有DNA及其他杂质，可直接用于RT-PCR和RT-qPCR等实验。

二、产品组分

组分	货号（规格）	EZ5106 (50 Preps)
Binding Buffer		27.5 ml
Wash Buffer*1		13 ml
Elution Buffer		5 ml
DNA Removing Spin Columns (with Collection Tubes)		50 Preps
Spin Columns for RNA (with Collection Tubes)		50 Preps

注：*1. Wash Buffer 首次使用前须加入瓶身标签所示体积的无水乙醇（Wash Buffer 与无水乙醇的体积比均为 1:4）。

三、保存条件

本产品中的 DNA Removing Spin Columns（DNA 清除柱）需避光保存在 4℃，其余所有组分保存在室温（15~25℃），可稳定保存 12 个月。过期日期详见产品标签中有效期信息。

四、注意事项

1. Wash Buffer（洗涤液）首次使用前须加入瓶身标签所示体积的无水乙醇并充分混匀（Wash Buffer 与无水乙醇的体积比为 1:4）。
2. 85%乙醇的配制方法按照无水乙醇:RNase-free ddH₂O = 85:15 的体积比例进行配制。
3. 建议使用前把 Elution Buffer（洗脱液）分装为 3~4 份，以减小污染的概率。
4. RNA 提取须在室温进行，提取过程中不可置于冰上。
5. RNA 洗脱时一定要将洗脱液加到柱中央的膜上（如果洗脱液加到侧壁上，会导致 RNA 没有被溶解而使产量大大减少），同时注意避免移液器枪尖将膜刺破。

五、自备材料

体外转录产物、无水乙醇、RNase-free ddH₂O、RNase-free 的 EP 管及移液器吸头、台式离心机等。

六、操作步骤

1. 使用 RNase-free ddH₂O 将体外逆转录产物稀释至 100 μ l 后加入 500 μ l Binding Buffer (结合液), 用移液器吹打混匀。
2. **可选操作:** 将上述样品转移至 DNA 清除柱中, 4000 g 离心 1 min (注: DNA 将结合在吸附柱上而被去除, RNA 则在流出液中); 弃去吸附柱, 保留 Collection Tube (收集管) 中的流出液。
3. 向上述样品加入等体积的 85% 乙醇, 用移液器充分吹打混匀。然后将混合液转移至 Spin Columns for RNA (RNA 离心吸附柱) 中, 4000 g 离心 1 min (若离心后柱中有液体残留, 可用 12000 g 再次离心 1 min), 弃去收集管中的液体 (倒掉液体后, 可将收集管倒扣在吸水纸上叩几下), 然后把离心柱套回收集管中。
4. 加入 500 μ l Wash Buffer (使用前请先确认已加入标签所示体积的无水乙醇) 到离心柱中, 12000 g 离心 1 min, 弃去收集管中的液体 (倒掉液体后, 可将收集管倒扣在吸水纸上叩几下), 然后把离心柱套回收集管中。注意: 将离心柱从收集管中取出时, 应小心操作, 防止离心柱底部接触到液体。
5. 重复步骤 4 一次。
6. 12000 g 空柱离心 1 min 以充分去除残留的废液。
7. 弃去收集管, 直接将离心柱转移至无 RNase 的 1.5 ml EP 管中, 开盖晾干 2 min。
8. 向离心柱中央的膜上入 30 ~ 50 μ l Elution Buffer, 室温放置 2 min。(注: 若想提高 RNA 产量, 可取适量的洗脱液提前预热到 60°C 再进行洗脱)。
9. 12000 g 离心 1 min (可选操作: 在初次洗脱离心后, 可将液体加回离心柱, 再放置 3 min, 使 RNA 充分溶解后再离心, 能增加 RNA 产量)。弃去离心柱, 所得的 RNA 应迅速转移到冰上放置并进行浓度测定, 然后进行后续实验, 或储存于 -80°C 备用 (因 RNA 不稳定, 建议尽快进行后续实验)。