

SteadyPure Mag RNA 纯化试剂盒 (磁珠法)

SteadyPure Mag RNA Purification Kit (Magnetic Beads)

Code No. AG21205

包装量: 50 rxns
保存温度: 4°C

产品概述

本产品旨在提供一种快速纯化回收 RNA 的方法, 可从体外转录的 RNA 产物、RNA 标记产物、粗提的 RNA 及合成的 RNA 等样品中纯化回收 RNA, 单次反应可纯化回收高达 500 μ g 不同来源的 RNA, 也适用于低浓度 RNA 的浓缩。本产品采用高结合力磁珠微球和独特的缓冲液系统, 核酸吸附能力强, 回收率高达 90%, 并能有效去除蛋白质、缓冲盐等杂质。使用本产品回收的 RNA 纯度高, 完整性好, 可直接用于 RT-PCR、RT-qPCR、RNA 文库构建及芯片分析等下游实验。

产品组成

| | |
|---|--------|
| RNA Purification Beads ^{*1、*2} | 4.5 ml |
| RNA Wash Buffer ^{*3} | 6 ml |
| RNase Free Water | 20 ml |

*1 RNA Purification Beads 避免冻存或使其干裂。

*2 RNA Purification Beads 每次取用前应涡旋振荡混匀使其充分悬浮, 否则可能会导致吸取磁珠的量不一致从而影响磁珠结合 RNA 的能力。

*3 RNA Wash Buffer 首次使用前, 请添加 24 ml 的无水乙醇 (RNA Wash Buffer 与无水乙醇体积比为 1 : 4)。混匀后在瓶子上做好标记, 4°C 保存。

保存及运输

保存温度: 4°C 保存

运输温度: 4°C 运输

实验前准备

1. 自备: 无水乙醇、离心管 (RNase-free)、PCR 管 (RNase-free)、移液器、磁力架、涡旋振荡器。
2. RNA Wash Buffer 首次使用前, 请添加 24 ml 的无水乙醇。混匀后在瓶子上做好标记, 4°C 保存。

注意事项

1. 按照本产品说明书进行 RNA 回收, 如果投入 50 μ l RNA 样品, 需按比例使用 90 μ l RNA Purification Beads 进行纯化, 本产品提供的试剂量可完成 50 rxns 纯化。
2. 本产品可回收浓度高至 10 μ g / μ l 的 RNA, 回收率高达 90%。若 RNA 浓度超过 10 μ g / μ l, 请用 RNase Free Water 稀释至 10 μ g / μ l 后使用, 过高的 RNA 浓度可能会降低 RNA 的回收率。若 RNA 浓度低于 10 μ g / μ l, 可直接进行回收。
3. RNA Purification Beads 切勿冻存或使其干裂, 否则可能会出现磁珠团聚、官能团脱落、磁珠形态发生变化等问题, 影响磁珠结合 RNA 的能力。
4. 将 RNA Purification Beads 从 4°C 取出需恢复至室温 (约 30 min) 再进行后续纯化操作, 否则可能会影响 RNA 的回收效率。
5. 用移液器吸取上清液时, 应注意不要触碰磁珠, 避免磁珠的损失, 从而影响 RNA 的收量。
6. 一般情况下, 磁性分离 1~5 min 可使磁珠与 Buffer 彻底分离, 但不同磁力架的磁力会有所不同, 磁性分离的时间可根据实际情况进行调整, 以确保磁珠完全吸附于离心管壁, 与 Buffer 彻底分离。
7. 磁珠开盖晾干时要避免过分干燥, 否则可能会出现磁珠干裂, 从而影响 RNA 的回收效率。
8. 转移洗脱液时建议保留 2~3 μ l 液体, 以免吸取到磁珠影响后续实验。

► 注意事项

9. 操作过程中，用移液器将上清液吸取完全后，应尽快进行后续操作，避免磁珠长时间暴露于空气中，导致磁珠干裂。
10. 纯化获得的 RNA 可直接用于后续实验。如果需要长期保存，请将 RNA 置于 -80°C 冻存。
11. 操作过程中，应预防 RNase 污染，需注意以下几方面：
 - ① 使用 RNA 操作专用实验台，经常更换新手套，穿戴 RNA 专用实验服，实验过程中尽量不要说话及来回走动，操作过程中避免物品从离心管上方经过。
 - ② 严防操作环境、使用的容器、耗材和试剂的 RNase 污染。

► 样品处理（可选步骤）

如果回收的 RNA 需要进行 DNase I 消化，可选择本公司产品 DNase I (RNase Free) (Code No. AG12001)。

以 $20\ \mu\text{l}$ 样品为例，具体操作如下：

向 $20\ \mu\text{l}$ RNA 样品中加入 $2\ \mu\text{l}$ 的 DNase I (RNase Free) ($5\ \text{U}/\mu\text{l}$)，使用移液枪吹打混匀， 37°C 孵育 15 min。

► 纯化步骤

以下纯化步骤以投入 $20\ \mu\text{l}$ RNA 样品为例进行纯化，若投入的 RNA 体积大于 $20\ \mu\text{l}$ ，请按比例增加 RNA Purification Beads 的用量。

1. 将 RNA Purification Beads 从 4°C 取出，使其温度恢复至室温备用。
2. 向 PCR 管 (RNase-free) 中加入 RNA 样品，若样品体积不足 $20\ \mu\text{l}$ 时，使用 RNase Free Water 将样品补足至 $20\ \mu\text{l}$ 。
【注：若 RNA 浓度超过 $10\ \mu\text{g}/\mu\text{l}$ ，请用 RNase Free Water 稀释至 $10\ \mu\text{g}/\mu\text{l}$ 后使用，过高的 RNA 浓度可能会降低 RNA 回收率。若 RNA 浓度低于 $10\ \mu\text{g}/\mu\text{l}$ ，可直接进行回收。】
3. RNA Purification Beads 恢复至室温后，涡旋振荡 3 min 或使用移液枪反复吹打 10 次充分悬浮磁珠，向上述 RNA 样品中加入 $36\ \mu\text{l}$ (样本体积 1.8 倍) 的 RNA Purification Beads。
【注：若样品体积超过 $20\ \mu\text{l}$ ，请按比例增加 RNA Purification Beads 的用量。例如 $50\ \mu\text{l}$ 的 RNA 样品中需要加入 $90\ \mu\text{l}$ 的 RNA Purification Beads。】
4. 用移液枪吹打 10 次使上述混合液充分混匀。室温孵育 5 min，使 RNA 结合到磁珠上。
5. 将上述混合液至于磁力架上吸磁 5 min，待溶液澄清后，小心移除上清。
6. 保持上述含有磁珠的 PCR 管 (RNase-free) 于磁力架上，沿管壁缓慢加入 $200\ \mu\text{l}$ RNA Wash Buffer (避免冲起磁珠)，静置 1 min，待溶液澄清后，小心移除上清。
【注：请确认 RNA Wash Buffer 中加入了指定体积的无水乙醇。】
7. 重复步骤 6 一次。
8. 保持上述含有磁珠的 PCR 管 (RNase-free) 于磁力架上，开盖干燥 2-10 min。
【注：开盖干燥过程中应避免过分干燥，如果过分干燥可能导致磁珠干裂，从而影响 RNA 的洗脱效率。】
9. 将样品从磁力架上取出，加入 $50\text{-}200\ \mu\text{l}$ RNase Free Water，用移液枪吹打数次以充分混匀，室温孵育 5 min。
【注：RNase Free Water 的添加量可根据实际需求的 RNA 浓度调整，若需求较高浓度的 RNA，可适当降低 RNase Free Water 的添加量 (例： $10\text{-}50\ \mu\text{l}$)。】
10. 将样品置于磁力架 2-5 min，待溶液澄清后，转移上清至新的离心管 (RNase-free)，纯化获得的 RNA 可立即用于后续实验或置于 -80°C 冻存。
【注：转移洗脱液时建议保留 $2\text{-}3\ \mu\text{l}$ 液体，以免吸取到磁珠影响后续实验。】