

HiPure RNA Pure Micro Kits

RNA 产物纯化试剂盒

产品组份

HiPure RNA Pure Micro Kit

Cat.No.	R2144-01	R2144-02	R2144-03
Package	10 Preps	50 Preps	250 Preps
Buffer RP	5 ml	30 ml	120 ml
Buffer RW2*	5 ml	20 ml	2 x 50 ml
RNase Free Water	1.8 ml	20 ml	60 ml
HiPure RNA Mini Columns I	10	50	250
2 ml Collection Tube	10	50	250

保存条件

本产品在室温下可以保存 18 个月。

产品简介

本产品为 RNA 粗制产物，酶促反应液的 RNA 片段回收纯化提供一条快速的解决方案。试剂盒采用硅胶柱纯化技术，适合于从 RNA 粗制产物、内切酶切体系、或其它酶促反应液中回收 >25nt RNA 片段。纯化的 RNA 可直接用于测序，连接，酶切，RT-PCR，标记等。

准备事项

- 在 Buffer RW2 中，加入 4 倍体积的无水乙醇，并于室温保存。
- 小型高速离心机 (~13,000 x g)
- 1.5ml 离心管(RNase-Free)
- 1ml 枪头(RNase-Free)
- 0.1ml 枪头(RNase-Free)
- 无水乙醇

实验步骤

1. 短暂离心 RNA 产物或反应液，用 RNase Free Water 调整样品体积至 100 μ l。(RNA 用量不要超过 100 μ g)。
2. **加入 300 μ l Buffer RP，涡旋混匀 10 秒，室温静置 5 分钟。**
3. 加入 250 μ l 无水乙醇，涡旋混匀 15 秒。
若需回收小分子 RNA(<200nt)，加入 600 μ l 无水乙醇。
4. 将 HiPure RNA 柱子套在收集管中。**把混合液(第 3 步获得的)转移至柱子中。**10,000 \times g 离心 30-60 秒。
注：混合液超过 700 μ l 时，一次最多转移 700 μ l 至柱子中，多余的按第 5 步分次加入。
5. (可选：混合液>700 μ l) 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。把剩余的混合液转移至柱子中。10,000 \times g 离心 30-60 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。**加入 500 μ l Buffer RW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中，静置 2 分钟，**10,000 \times g 离心 30-60 秒。
使用 Buffer RW2 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
7. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。**加入 500 μ l Buffer RW2（已用无水乙醇稀释）至柱子中。**10,000 \times g 离心 30-60 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。13,000 \times g 离心 2 分钟。
9. **把柱子套在 1.5ml 离心管中，加入 15-30 μ l RNase Free Water 至柱子膜中央。**放置 1 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。
10. 若需要获得最高产量，建议重复第 9 步进行第二步洗脱。
11. 丢去柱子，把 RNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

常见问题

1. 回收效率低

- **洗脱不充分：**建议用洗脱液洗脱两次，以获得最高的回收率。洗脱液必须加入柱子的膜中央。洗脱效率取决于洗脱体积和次数。
- **试剂准备有误：**Buffer RW2 没有加入乙醇稀释或体积不准确(乙醇浓度需控制在 80%)。
- **结合液加入体积不足：** Buffer RP 的体积是样品体积的 3 倍。

2. 连接不理想

- **乙醇污染：**洗脱 RNA 前，打开柱子的盖子，空气干燥 10~15 分钟。
- **A260/230 低：** Buffer RW2 加至柱子后，静置 2 分钟后再离心。