

MagPure RNA Clean Up Kit

简介

MagPure RNA Clean Up Kit 为 cDNA 产物，酶促反应物的 RNA 片段回收纯化提供一条快速的解决方案。试剂盒采用均一的弱离子交换磁珠纯化技术，适合于从 RNA 产物、限制性内切酶切体系、或其它酶促反应液中回收大于 25nt RNA 片段。

试剂盒组成

编号	BRP-5	BRP-50	BRP-500
CR Solution	5 ml	50 ml	500 ml

保存条件

收到该试剂后请于 2-8°C 保存。该试剂可以在 2-8°C 保存 1 年。

准备工作

- 85%乙醇
- 异丙醇
- 0.5ml 96 孔板
- 8 通道移液枪
- 磁力架
- (自动化方案) 96 通道移液工作站

操作流程

● 96 孔操作流程

1. 把 96 孔 RNA 产物放置于工作台上，测量产物的体积。若 RNA 产物 > 50 μ l 时，则需要转移至 0.3-0.5ml 的 96 孔板中；若 RNA 产物 < 50 μ l 时，可不需转移 PCR 产物，可直接在 PCR 反应板中进行操作；
2. 取出 CR Solution，振荡使磁珠充分重悬。
3. 按下表把 CR Solution 和异丙醇添加至 cDNA 产物中。

RNA 体积	CR Solution	异丙醇
20 μ l	20 μ l	40 μ l
50 μ l	50 μ l	100 μ l
100 μ l	100 μ l	200 μ l

4. 用移液枪吸打混匀 15 次，或在 IKA MS3 涡旋仪上，600-1000rpm 振荡混匀 3 分钟，室温静置 10 分钟。
5. 把 96 孔板转移至 96 孔磁力架上，静置 10 分钟富集磁珠。小心吸弃上清液；
6. 每孔加 300 μ l 85%乙醇，在 IKA MS3 涡旋仪上，600-1000rpm 振荡混匀 1 分钟，把 96 孔板转移至 96 孔磁力架上，静置 2 分钟富集磁珠。小心吸弃上清液；
7. 每孔加 300 μ l 85%乙醇，在 IKA MS3 涡旋仪上，600-1000rpm 振荡混匀 1 分钟，把 96 孔板转移至 96 孔磁力架上，静置 2 分钟富集磁珠。小心吸弃上清液；
8. 彻底吸尽残液。空气干燥 10 分钟。
9. 从磁力架上取下 96 孔板中。加入 20 μ l DEPC 处理水或 2.5mm Tris(pH7.0-8.0)至每一个孔中。吸打 15 次，或在 IKA MS3 涡旋仪上，1000-1500rpm 振荡 3 分钟充分重悬磁珠。室温静置 5 分钟。
10. 转移至磁力架上静置 3-5 分钟富集磁珠。
11. 把 RNA 转移至新的 96 孔板中。

● 单管操作（磁力架）

1. 把 RNA 产物放置于工作台面上，测量产物的体积。
2. 转移至 1.5ml 离心管中。
3. 取出 CR Solution，振荡使磁珠充分重悬。
4. 按下表把 CR Solution 和异丙醇添加至 cDNA 产物中。

RNA 体积	CR Solution	异丙醇
20 μ l	20 μ l	40 μ l
50 μ l	50 μ l	100 μ l
100 μ l	100 μ l	200 μ l

5. 涡旋混匀 20 秒，室温静置 10 分钟，其间颠倒混匀数次。
6. 转移至磁力架上，静置 5-10 分钟富集磁珠。小心吸弃上清液；
7. 加 500 μ l 85%乙醇，涡旋混匀 15 秒。转移至磁力架上，静置 2~3 分钟富集磁珠。小心吸弃上清液；
8. 加 500 μ l 85%乙醇，涡旋混匀 15 秒。转移至磁力架上，静置 2~3 分钟富集磁珠。小心吸弃上清液；
9. 短暂离心，吸尽残液。空气干燥~3 分钟。
10. 加入 20~50 μ l DEPC 处理水，涡旋混匀 15 秒，室温静置 5 分钟。
11. 转移至磁力架上静置 3-5 分钟富集磁珠。
12. 把 RNA 转移至新的离心管中。

● 单管操作（离心）

1. 把 RNA 产物放置于工作台面上，测量产物的体积。转移至 1.5ml 离心管中。
2. 取出 CR Solution，振荡使磁珠充分重悬，按下表把 CR Solution 和异丙醇添加至 cDNA 产物中。

RNA 体积	CR Solution	异丙醇
20 μ l	20 μ l	40 μ l
50 μ l	50 μ l	100 μ l
100 μ l	100 μ l	200 μ l

3. 涡旋混匀 20 秒，室温静置 10 分钟，其间颠倒混匀数次。13,000 x g 离心 1 分钟，小心吸弃或倒弃上清液；
4. 加入 500 μ l 85%乙醇，涡旋混匀 15 秒。13,000 x g 离心 1 分钟，小心吸弃或倒弃上清液；
5. 短暂离心，吸尽残液。空气干燥~3 分钟。
6. 加入 10~30 μ l DEPC 处理水，涡旋混匀 15 秒，室温静置 3 分钟。
7. 13,000 x g 离心 1 分钟。
8. 把 RNA 转移至新的离心管中。

常见问题及解答

● 回收效率不高

1. 影响回收效率的第一因素：洗脱不充分。洗脱液的 pH 必须是 7.0-8.0。酸性的洗脱液会降低洗脱效率。此外洗脱时，磁珠没有充分重悬。
2. 影响回收效率的第二因素：过分干燥。过分干燥会影响洗脱效率。
3. 影响回收效率的第三因素：CR Solution 使用前没有充分混匀。
4. 影响回收效率的第四因素：操作过程中磁珠有丢失。延长磁珠富集时间。在第一次富集期间用移液枪轻轻 2-3 次提高富集效果。