

货号: **A66514**

1/12



RNAClean XP RNA 核酸纯化试剂盒说明书

RNAClean XP

体外产生的 RNA 和 cDNA 纯化



PN C63085AA
2020 年 5 月



贝克曼库尔特 (美国) 股份有限公司
250 S. Kraemer Blvd.
Brea, CA 92821 U.S.A.



【产品名称】

通用名称：RNAClean XP RNA 核酸纯化试剂盒

英文名称：Agencourt RNAClean XP

【RNAClean XP】

体外产生的 RNA 和 cDNA 纯化使用说明书

PN C63085AA（2020 年 5 月）

© 2020 贝克曼库尔特（美国）股份有限公司

保留所有权利。

Beckman Coulter、标志以及文中提及的贝克曼库尔特产品和服务标记均是贝克曼库尔特（美国）股份有限公司在美国和其他国家/地区的商标或注册商标。

所有其他商标、服务标记、产品或服务均为其各自持有者的商标或注册商标。

【联系我们】

- 有关此方案的问题，请致电贝克曼库尔特生命科学技术支持部待确认。
- 欲获得其他信息，或收到破损产品，请致电 400 821 8935 与贝克曼库尔特生命科学客户服务部联系，或联系当地贝克曼库尔特生命科学代表。
- 有关更新的方案，请参阅 www.beckman.com/techdocs。

符号词汇表发布于

www.beckman.com/techdocs (PN C05838).

【产品可用性】

REF A66514-RNAClean XP, 450 mL

REF A63987-RNAClean XP, 40 mL

可通过以下网址联系我们：

www.beckman.com

Beckman Coulter Eurocenter S.A.

22, rue Juste-Olivier

Case Postale 1044

CH - 1260 Nyon 1, Switzerland

电话： +41 (0) 22 365 36 11

美国印刷

【修订历史】

本文件适用于最新版本及更高版本。如果后续版本更改本文件中的信息，将在 Beckman Coulter 网站发布新版本。有关更新，请访问 www.beckman.com/techdocs 并下载最新版本的手册。

初始版本 AA，2020 年 5 月

【说明书版本说明】

原文说明书文档版本：C63085AA，原文说明书生效日期：2020 年 5 月；

中文说明书文档版本：C63085AA -CN，中文说明书生效时间：2024 年 4 月；

中文说明书 C63085AA -CN 内容直接翻译自原文说明书 C63085AA。

【RNA 和 cDNA 的纯化方案】

RNAClean XP 仅用于分子生物学研究。不用于诊断程序。

【目录】

- 简介，第 4 页
- 试剂盒规格，第 5 页
- 无 RNA 酶条件下工作，第 5 页
- 警告声明，第 6 页
- 储存和稳定性，第 6 页
- 提供的材料，第 6 页
- 需要但未提供的材料，第 6 页
- 过程概述，第 8 页
- 回收率计算，第 8 页
- 程序
 - 用于小体积反应的 96 孔板形式 (1-100 μL)，第 9 页
 - 用于大体积反应的 96 孔板形式 (101-200 μL)，第 11 页
 - 单管形式，第 13 页
 - 384 孔板形式，第 15 页

【简介】

RNAClean XP 利用 Beckman Coulter Inc. 的固相顺磁性微粒技术，从转录、反义 RNA (aRNA) 扩增、RNA 和 cDNA 探针合成等体外应用中高通量纯化 RNA 或 cDNA。RNAClean XP 利用优化缓冲液将 RNA 或 cDNA 选择性结合到顺磁性微粒上。可使用简单清洗程序去除过量寡核苷酸、核苷酸、盐和酶。所得纯化产物可用于以下应用：

- PCR 和 RT-PCR
- 微阵列或宏阵列探针
- RNA 酶保护测定
- 用于 RNAi 实验的转染

- cDNA 合成和标记

由于清洁程序使用磁分离且无需离心或真空过滤，因此非常适用于各种自动化平台。有关 RNAClean XP 试剂盒自动化的更多信息，请[联系我们](#)。

【试剂盒规格】

注释 RNAClean XP 试剂盒是在无 RNA 酶条件下制造的，并已经测试和认证不含污染性核酸酶。

试剂盒部件编号	体积
A66514	450 mL
A63987	40 mL

【在无 RNA 酶条件下工作】

RNA 酶为普遍存在，应遵循一般预防措施，以避免在 RNAClean XP 程序中引入污染性核酸酶。**NA 酶**污染最常见的来源为手、灰尘颗粒以及受污染的实验室仪器、溶液和玻璃器皿。使用 RNA 时，应遵循以下程序以限制 **RNA 酶**污染：

- 始终佩戴手套工作，并经常更换手套
- 尽可能使用无 **RNA 酶**的过滤移液器吸头进行移液
- 使用无 **RNA 酶**的专用设备，如移液器、移液器吸头、凝胶盒等。
- 避免使用其他通用实验室过程常用的试剂、耗材和设备
- 如可用，在单独房间、通风柜或实验室空间工作
- 使用经认证无 **RNA 酶**的塑料一次性耗材
- 购买经认证无 **RNA 酶**的试剂，如常用缓冲液和水。制备此类缓冲液的小等分试样，以避免原液缓冲液的重复转移。这降低了污染原液溶液的风险
- 开始工作前，使用商用 **RNA 酶**抑制表面活性剂溶液或 70%乙醇擦拭工作表面
- 使用前，用 3%过氧化氢处理电泳凝胶盒（包括电泳梳和凝胶托盘）10 分钟，并用经 DEPC 处理的水冲洗

【警告声明】



化学品安全技术说明书提供于 www.beckman.com/techdocs。

【储存和稳定性】

注释 有关失效日期，请参阅产品标签。

试剂	到货后储存条件
RNAClean XP	2-8°C，储存长达 18 个月。

【提供的材料】

试剂	450 mL	40 mL
RNAClean XP	A66514	A63987

【需要但未提供的材料】

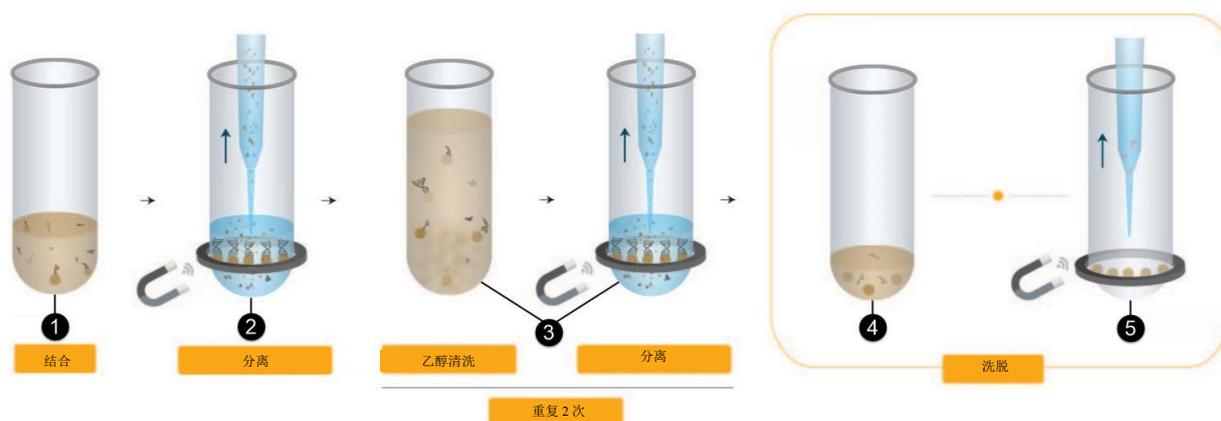
【耗材和硬件】

项目	形式	类型
SPRIPlate 磁力板	96 孔	SPRIPlate 96R -环形超极磁力板 (Beckman Coulter 产品编号 A32782, www.beckman.com)
	384 孔	未说明。
	单管	SPRIStand 6 管磁力架 (Beckman Coulter 产品编号 A29182, www.beckman.com)
反应板	96 孔	<ul style="list-style-type: none"> 96 孔 300 μL 圆底微孔板 [Corning 编号 3795 http://www.vwrsp.com/] 或 96 孔 PCR 板 [ABGene 编号 AB-0800 http://www.abgene.com/]
	384 孔	<ul style="list-style-type: none"> 384 孔 40 μL PCR 板 [对于自动化: MJ Research 硬壳 PCR 板编号 HSP-3801; http://www.mjr.com/html/consumables/microplates/hard_shell.html] 或者 ABGene 384 孔 PCR 板编号 AB-0937 (http://www.abgene.com/), 将需要手动干预]
	单管	1.7 mL 试管 (无核酸酶) (ABGene 编号 T5050G; http://www.abgene.com)
封板膜, 粘性或热封	不适用	例如: ABgene 产品编号 AB-3739; http://www.abgene.com/

【试剂】

项目	供应商和目录号
70%乙醇, 无 RNA 酶 注释 70%乙醇具有吸湿性。定期制备新鲜的 70%乙醇以 以获得最佳结果。	未说明。
试剂级水, 无 RNA 酶 RNA 酶	American Bioanalytical 产品编号 AB02128 ; http://www.americanbio.com/

【过程概述】



1. 将总 RNA 与磁珠结合。
2. 将结合至磁珠上的总 RNA 与污染物分离。
3. 用乙醇清洗 RNA。
4. 从磁珠中洗脱 RNA。
5. 将磁珠转移至新板中。

【回收率计算】

为衡量 RNA 或 cDNA 的回收率，需要对样品进行预纯化和

纯化后分析。对于 RNA，Beckman Coulter 建议使用 RiboGreen 测定法或在琼脂糖凝胶上进行可视化。不建议使用 260 nm 的光密度 (OD) 进行分光光度分析。在 260 nm 处单链和双链核酸均将有助于总吸光度读数。对于预纯化样品，单链引物、模板 DNA 和 rNTP 将有助于初始吸光度，并错误增加 RNA 量读数。相比之下，RiboGreen 测定法使用嵌入染料来定量 RNA。当进行 RiboGreen 读数预纯化时，引物和 rNTP 将不会错误增加读数。但是在存在 DNA 的情况下，RiboGreen 也将发出荧光，因此仅在用 DNase I 消化步骤处理样品后才能进行读数。这能够更准确量化回收率。出于类似原因，建议使用 PicoGreen 分析法进行 DNA 分析。

除 RiboGreen/PicoGreen 读数外，建议在片段分析仪（如 Bioanalyzer 或 TapeStation）上对样品预纯化和纯化后进行可视化，但这将提供更主观量化。

【程序】

按照以下章节中适用于所需反应体积和形式的说明进行操作。

- [用于小体积反应的 96 孔板形式 \(1-100 \$\mu\$ L\)](#)
- [用于大体积反应的 96 孔板形式 \(101-200 \$\mu\$ L\)](#)
- [单管形式](#)
- [384 孔板形式](#)

重要提示 对于最佳结果：

- 充分摇晃试剂，直至所有磁珠完全悬浮，并将 RNAClean XP 等分试样放入无 RNA 酶容器中。
- 不得将剩余试剂倒回原液容器中。
- 使用前充分混合 RNAClean XP。试剂颜色应看起来均匀一致。

【用于小体积反应的 96 孔板形式 (1-100 μ L)】

1 确定是否需要板转移。

PCR 板的最大体积通常为 200 μ L。如果反应体积乘以

2.8 超过 PCR 板的体积，则需要转移至 300 μ L 圆底板中。注释：对于 200 μ L PCR 板，使用 127.8 μ L RNAClean XP 试剂的最大反应体积为 71 μ L。Beckman Coulter 建议将 300 μ L Corning 编号 3795 板与 RNAClean XP 试剂盒配合使用。300 μ L 微量滴定板最多可容纳 100 μ L 反应体积和 180 μ L RNAClean XP 试剂。大于 100 μ L 的反应体积可以使用方案[用于大体积反应的 96 孔板形式 \(101-200 \$\mu\$ L\)](#) 进行纯化。

2 摇晃 RNAClean XP 瓶，使可能沉降的任何磁珠重悬。根据以下反应体积图添加 RNAClean XP

:

反应体积 (μL)	RNAClean XP 体积 (μL)
20	36
50	90
100	180

对于给定反应，RNAClean XP 的体积可以由以下方程式推导：

$$(\text{每次反应的 RNAClean XP 体积}) = 1.8 \times (\text{反应体积})$$

3 通过移液器混合 10 次或涡旋 30 秒，将 RNAClean XP 和反应充分混合。

此步骤将 RNA/cDNA 产物结合至磁珠上。由于移液器混合更具再现性，因此首选移液器混合。如果使用涡旋，则在涡旋前必须用封板膜将板密封。混合后，混合液的颜色应均匀。将板移至磁板上之前，让混合样品在室温下孵育 3-5 分钟，以获得最大回收率。对于 50 μL 及以上的反应，强烈建议孵育 5 分钟；对于单链 DNA 的纯化，孵育多达 20 分钟可提高回收率。

4 将反应板放置在 SPRIPlate 96 磁力板上 5 至 10 分钟，以将磁珠从溶液中分离出来。

分离时间取决于反应大小。较大反应大小将需要更长分离时间。等待溶液澄清后再继续下一步。

5 从反应板中缓缓吸出澄清溶液并丢弃。

当反应板位于 SPRIPlate 96 磁力板上时，必须执行此步骤。不得干扰分离的磁环。

6 将 200 μL 70%乙醇加注至反应板的每个孔中，并在室温下孵育 30 秒。吸出乙醇并丢弃。重复清洗共计三次。

重要的是，使用位于 SPRIPlate 96 磁力板上的反应板执行这些步骤。不得干扰分离的磁性磁珠。必须清除孔底的所有乙醇，因其可能含有残留污染物。

7 让反应板风干 10 分钟。

应风干此板，直至蒸发最后可见微量乙醇。过度干燥样品可能导致回收率降低。如果样品将立即使用，则进行步骤 8 进行洗脱。如果样品不将立即使用，则将干燥后的板密封并在 4°C 或 -20°C 下储存。如需对样品进行长期冷冻，Beckman Coulter 建议将样品从磁珠转移至新板中，因为磁珠可能会破碎，片段可能不再对磁场有反应。

8 向反应板的每个孔中加入 40 μL 无 RNA 酶的水，并密封涡旋 30 秒或移液器混合 10 次。

磁珠环从孔底形成约 30-40 μL。可使用更大体积的洗脱缓冲液，但使用小于 30 μL 缓冲液将需要额外涡旋（以确保液体与磁珠接触），并且可能不足以洗脱整个产物。建议使用无 RNA 酶的水作为洗脱缓冲液。洗脱快速，且磁珠无需回到溶液中进行完全洗脱。

当设置下游反应或转移样品时，当洗脱液位于 SPRIPlate 96 磁力板上时，用移液器从板中移走洗脱液。这将防止磁珠携带污染。

【用于大体积反应的 96 孔板形式 (101-200 μL)】

考虑到标准 96 孔微量滴定板的 300 μL 容量，以下方案对每个样品采用两个序列 RNAClean XP 结合反应/分离事件。两种纯化均发生在同一孔中。小于 100 μL 的反应体积可以使用方案 [用于小体积反应的 96 孔板形式 \(1-100 μL\)](#) 进行纯化。

1 将一半体积的未纯化反应转移至 300 μL 圆底板中。

Beckman Coulter 建议将 Corning 编号 3795 微量滴定板与 RNAClean XP 试剂盒配合使用。

- 2 震荡 RNAClean XP 瓶, 使可能沉降的任何磁珠重悬。基于反应的 半体积, 根据下表添加 RNAClean XP:

半反应体积 (μL)	RNAClean XP 体积 (μL)
60	108
75	135
100	180

对于给定反应, RNAClean XP 的体积可以由以下方程式推导:

$$(\text{每次反应的 RNAClean XP 体积}) = 1.8 \times (\text{反应体积})$$

- 3 通过移液器混合 10 次或涡旋 30 秒, 将 RNAClean XP 和反应充分混合。在进行下一步之前, 让板在室温下孵育 5 分钟。

此步骤将 RNA (或 cDNA) 产物结合至磁珠上。由于移液器混合更具再现性, 因此首选移液器混合。如果使用涡旋, 则在涡旋前必须用封板膜将板密封。混合后, 混合液的颜色应均匀。对于单链 DNA 的纯化, 孵育多达 20 分钟可提高回收率。

- 4 将反应板放置在 SPRIPlate 96 磁力板上 5 至 10 分钟, 以将磁珠从溶液中分离出来。

分离时间取决于反应大小。较大反应大小将需要更长分离时间。等待溶液澄清后再继续下一步。

- 5 从反应板中缓缓吸出澄清溶液并丢弃。

当反应板位于 SPRIPlate 96 磁力板上时, 必须执行此步骤。不得干扰分离的磁性磁珠环。

- 6 将未纯化反应的后半部分加注至与反应的前半部分相同的孔中。

反应的后半部分的加入将干扰一些磁珠。此为预期情况, 将不会造成问题。

- 7 从 SPRIPlate 96 磁力板上取下微量滴定板。根据步骤 2 中的图表添加适当体积的 RNAClean XP ($1.8 \mu\text{L} \times [\text{反应后半部分的体积}]$)。

- 8 通过移液器混合 10 次或涡旋 30 秒, 将 RNAClean XP 和反应充分混合。在进行下一步之前, 让板在室温下孵育 5 分钟。

此步骤将 RNA/cDNA 产物结合至磁珠上。由于移液器混合更具再现性, 因此首选移液器混合。如果使用涡旋, 则在涡旋前必须用封板膜将板密封。混合后, 混合液的颜色应均匀

- 9 将反应板放回 SPRIPlate 96 磁力板上 5 至 10 分钟, 以将磁珠从溶液中分离出来。

分离时间取决于反应大小。较大反应大小将需要更长分离时间。等待溶液澄清后再继续下一步。

- 10 从反应板中缓缓吸出澄清溶液并丢弃。

当反应板位于 SPRIPlate 96 磁力板上时, 必须执行此步骤。不得干扰分离的磁性磁珠环。

- 11 将 200 μL 70%乙醇加注至反应板的每个孔中, 并在室温下孵育 30 秒。吸出乙醇并丢弃。重复清洗共计三次。

重要的是, 使用位于 SPRIPlate 96 磁力板上的反应板执行这些步骤。不得干扰分离的磁性磁珠。必须清除孔底的所有乙醇, 因其可能含有残留污染物。

- 12 让反应板风干 10 分钟。

应风干此板, 直至蒸发最后可见微量乙醇。过度干燥样品可能导致回收率降低。如果样品将立即使用, 则进行步骤 13 进行洗脱。如果样品不将立即使用, 则将干燥后的板密封并在 4°C 或 -20°C 下储存。如需对样品进行长期冷冻, Beckman Coulter 建议将样品从磁珠转移至新板中, 因为磁珠可能会破碎, 片段可能不再对磁场有反应。

- 13 向反应板的每个孔中加入 40 μL 无 RNA 酶的水, 并密封涡旋 30 秒或移液器混合 10 次。

磁珠环从孔底形成约 30-40 μL 。可使用更大体积的洗脱缓冲液，但使用小于 30 μL 缓冲液将需要额外涡旋（以确保液体与磁珠接触），并且可能不足以完全洗脱整个产物。建议使用无 RNA 酶的水作为洗脱缓冲液。洗脱快速，且磁珠无需回到溶液中进行完全洗脱。

当设置下游反应或转移样品时，当洗脱液位于 SPRIPlate 96 磁力板上时，用移液器从板中移走洗脱液。这将防止磁珠携带污染。

【单管形式】

1 将反应物转移至 1.7 mL 无 RNA 酶的试管中。

如果未用手触摸，通常认为塑料实验室器皿无 RNA 酶。但是 Beckman Coulter 建议使用来自 ABGene[产品编号 T5050G]的 1.7 mL 试管，该试管经认证无 RNA 酶。

2 轻轻摇晃 RNAClean XP 瓶，使可能沉降的任何磁珠重悬。根据以下反应体积图添加 RNAClean XP:

反应体积 (μL)	RNAClean XP 体积 (μL)
50	90
100	180
150	270
200	360

对于给定反应，RNAClean XP 的体积可以由以下方程式推导：

$$(\text{每次反应的 RNAClean XP 体积}) = 1.8 \times (\text{反应体积})$$

3 通过移液器混合 15 次，将 RNAClean XP 和样品充分混合。进行下一步前，让反应管在室温下孵育 5 分钟。

此步骤将 RNA/cDNA 产物结合至磁珠上。为将结合和回收率最大化，必须将试管从 SPRIS 和磁力架上取下。不建议进行涡旋。混合后，混合液的颜色应均匀。对于单链 DNA 的纯化，孵育多达 20 分钟可提高回收率。

4 将反应管放置在 SPRIstand 磁力架上 5 分钟，以将磁珠与溶液分离。

分离时间取决于反应大小。较大反应大小将需要更长分离时间。等待溶液澄清后再继续下一步。

5 从试管中缓缓吸出澄清溶液并丢弃。

应在试管位于 SPRIstand 上时执行该步骤。不得干扰磁珠，磁珠在管侧形成磁珠团。

6 将 500-1000 μL 70%乙醇加注至反应管中，并在室温下孵育 30 秒。吸出乙醇并丢弃。重复清洗共计三次。

重要的是，使用位于 SPRIstand 上的试管执行这些步骤。不得干扰分离的磁性磁珠。必须清除孔底的所有乙醇，因其可能含有残留污染物。

注释 清洗所需的乙醇体积将取决于原始反应的大小。清洗溶液必须完全覆盖管侧的整个磁珠团块。

7 打开管盖，让反应管在 SPRIstand 上风干 10 分钟。

应风干反应管，直至蒸发最后可见微量乙醇。过度干燥样品可能导致回收率降低。如果样品将立即使用，则进行步骤 8 进行洗脱。如果样品不将立即使用，则应加盖反应管并在 4°C 或 -20°C 下储存。如需对样品进行长期冷冻，Beckman Coulter 建议将样品从磁珠转移到新管或新板中，因为

磁珠可能会破碎，片段可能不再对磁场有反应。

8 用无 RNA 酶水从磁珠中洗脱纯化产物。

向试管中加入至少 30 μL 洗脱体积，并通过上下数次移液手动重悬磁珠。将洗脱缓冲液沿管侧排出，以确保整个磁珠团块与缓冲液接触。可使用更大体积的洗脱缓冲液，并可能有助于具有大量磁珠的样品。使用少于 15 μL 洗脱缓冲液可能不足以完全洗脱产物。洗脱快速，且磁珠无需回到溶液中进行完全洗脱。

当设置下游反应或转移样品时，当洗脱液位于 SPRIstand 上时，用移液器从管中移走洗脱液。这将防止磁珠携带污染。

【384 孔板形式】

1 确定样品加 RNAClean XP 的总体积是否适合 384 孔 PCR 板孔。

通常，384 孔 PCR 板的最大孔体积为 40 μL 。可在此类型板中纯化 14 μL 或以下反应（14 $\mu\text{L} \times 2.8 = 39.2 \mu\text{L}$ ）。

对于自动化，Beckman Coulter 强烈推荐使用 MJ Research 硬壳 PCR 板（HSP-3801）。此板的设计实际上消除了热循环引起的翘曲，使机械臂系统更容易将板移至和移出 SPRIPlate 384 磁力板。其他 384 孔板（例如 Marsh AB-0937）与磁体兼容，但将需要手动干预以将板移至和移出 SPRIPlate 384 磁力板。有关板选择的更多信息，[请联系我们](#)。

2 轻轻摇晃 RNAClean XP 瓶，使可能沉降的任何磁珠重悬。根据以下反应体积图添加 RNAClean XP:

反应体积 (μL)	RNAClean XP 体积 (μL)
10	18
14	25

对于给定反应，RNAClean XP 的体积可以由以下方程式推导：

$$(\text{每次反应的 RNAClean XP 体积}) = 1.8 \times (\text{反应体积})$$

3 通过移液器混合 15 次，将 RNAClean XP 和反应充分混合。

此步骤将 RNA（或 cDNA）结合至磁珠上。不建议在 384 孔板形式中进行涡旋反应。混合后，混合液的颜色应均匀。

4 将反应板放置在 SPRIPlate 384 磁力板上 3 至 5 分钟，以将磁珠与溶液分离。

分离时间取决于反应大小。较大反应大小将需要更长分离时间。溶液应澄清后再继续下一步。

5 从反应板中缓缓吸出澄清溶液并丢弃。

当纯化板位于 SPRIPlate384 磁力板上时，应执行此步骤。不得触摸磁珠，磁珠在孔侧形成磁珠团。

6 将 30 μL 70%乙醇加注至反应板的每个孔中，并在室温下孵育 30 秒。吸出乙醇并丢弃。清洗共重复两次。

重要的是，使用位于 SPRIPlate 384 磁力板上的反应板执行这些步骤。不得干扰分离的磁性磁珠。必须清除孔底的所有乙醇，因其可能含有残留污染物。

7 让反应板风干 10 分钟。

应风干此板，直至蒸发最后可见微量乙醇。过度干燥样品可能导致回收率降低。如果样品将立即使用，则进行步骤 8 进行洗脱。如果样品不将立即使用，则将干燥后的板密封并在 4°C 或 -20°C 下

储存。如需对样品进行长期冷冻，Beckman Coulter 建议将样品从磁珠转移至新板中，因为磁珠可能会破碎，片段可能不再对磁场有反应

8 向反应板的每个孔中加入 30 μ L 无 RNA 酶的水，并密封涡旋 30 秒或移液器混合 10 次。

30 μ L 的洗脱体积将确保液位高到足以接触磁珠。可使用更大体积的洗脱缓冲液，但使用小于 15 μ L 的缓冲液将需要额外涡旋以确保液体与磁珠接触，并且可能无法完全洗脱产物。洗脱快速，且磁珠无需回到溶液中进行完全洗脱。

当设置下游反应或转移样品时，当洗脱液位于 SPRIPlate 384 磁力板上时，用移液器从板中移走洗脱液。这将防止磁珠携带污染。

www.beckman.com

