



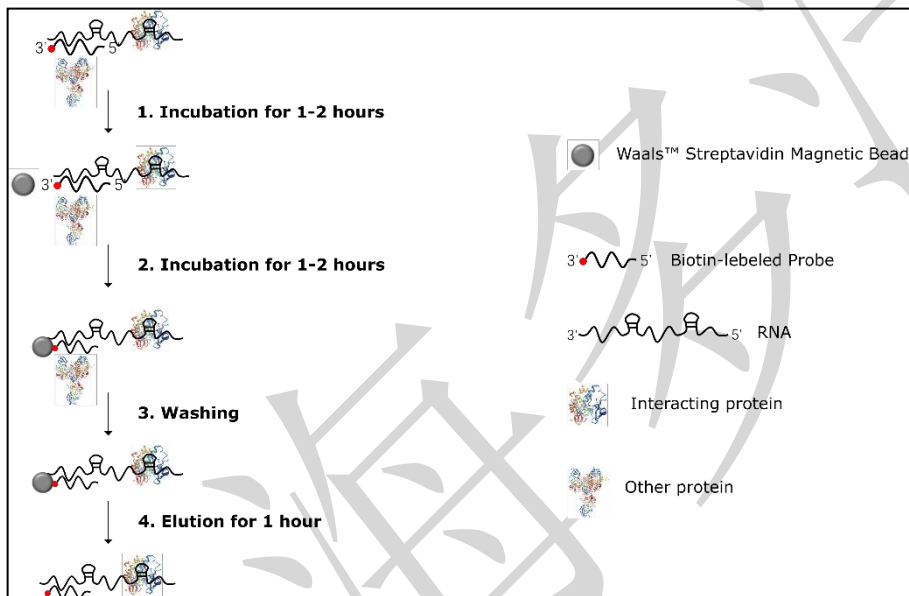
RNA Pull-down Kit

产品货号	产品名称	包装
DW1127	RNA Pull-down Kit	20T

产品简介:

RNA Pull-down Kit 提供链霉素亲和素磁珠。客户需自备生物素标记的探针。生物素标记的探针与样品蛋白孵育形成 RNA-蛋白复合物，通过磁珠分离可高效富集与目的 RNA 相互作用的蛋白。通过 Elution 洗脱后可进行 SDS-PAGE、银染、质谱、免疫印迹等分析。

操作流程:



操作步骤:

1. 细胞裂解及注意事项

1. 用标准的蛋白裂解 buffer (e.g., IP Lysis Buffer) 并加入蛋白酶抑制剂处理细胞。
2. 蛋白的浓度应大于 2mg/mL, 以确保在 RNA Pull-down 实验中蛋白量充足。
3. 确保蛋白为新鲜提取蛋白且无细菌等污染。

2. 磁珠准备

1. 重悬磁珠, 吸取 50μL 至无酶离心管中。
2. 将离心管置于磁力架上, 收集磁珠并弃掉上清液。
3. 用 50μL 20 mM Tris 重悬磁珠。
4. 将离心管置于磁力架上, 收集磁珠并弃掉上清液。
5. 重复步骤 3 和 4。
6. 用 50μL 1 × RNA Capture Buffer 重悬磁珠。

3. RNA Pull-down

1. 用 RNA Pull-down Kit 提供的试剂按下表配制 RNA Pull-down Mix:

试剂名称	体积 (μL)	终浓度
------	---------	-----



10 × RNA-Protein Binding Buffer	10	1 ×
50% glycerol	30	-
Lysate (protein conc. >5µg/µL)	20 - 40	> 100 µg
Biotin-labeled Probe		10 - 50 (nM)
Nuclease-free water	to 100	-
	100	

2. 孵育条件：室温旋转孵育 1-2 小时，或 4°C 旋转孵育 2-4 小时。
3. 离心管置于磁力架上，收集磁珠并弃掉上清液。
4. 将 100µL RNA Pull-down Mix 加入离心管中，温和重悬。
5. 室温旋转反应 1-2 小时。
6. 将离心管置于磁力架上，收集磁珠，将上清液转入新的离心管，可用于后续分析。
7. 加入 100µL 1 × Wash buffer，温和重悬。
8. 将离心管置于磁力架上，收集磁珠弃掉上清液。
9. 重复步骤 5 和 6，2 次。
10. 加入 100µL 1 × Wash buffer，温和重悬。
11. 将离心管置于磁力架上，收集磁珠，将上清液转入新的离心管，可用于后续分析，以评估是否洗净。
12. 加入 50µL Elution buffer 至离心管中，充分混匀。
13. 室温旋转反应 30 - 60 分钟。
14. 将离心管置于磁力架上，收集上清液至新的离心管中，用于后续实验。

问题	可能原因	解决方案
1. RNA 降解	有 RNA 酶污染	采用无酶试管，反应中加入 RNA 酶抑制剂，操作中注意避免 RNA 酶污染
2. 非特异性蛋白较多	磁珠非特异性吸附蛋白	加入 0.1 - 0.5 mg/mL BSA 溶液封闭磁珠非特异性吸附
	洗涤不充分	增加洗涤次数
3. 未检测到目的蛋白	蛋白质降解或污染	确保蛋白质为新鲜提取，未污染的蛋白质
	蛋白质含量不够	增加蛋白含量
	蛋白抗体问题	增加对照实验检测蛋白抗体是否有效，且检测灵敏度是否足够
	蛋白裂解不充分或过度	更换合适的蛋白裂解液
	洗脱不充分	可增加 Elution buffer 洗脱时间

本产品文章中的写法：

英文：Dowobio (Shanghai, China)

中文：上海多沃生物科技有限公司 Dowobio, 上海