



RNA 与蛋白的相互作用试剂盒 (RIP)

产品货号	产品名称	包装
DW1146	RNA 与蛋白的相互作用试剂盒(RIP)	20T

产品介绍:

细胞中存在大量蛋白与 RNA 的复合物, 它们的相互作用发挥重要的生物学功能。Dowobio™ RNA IP Kit 提供 Protein A/G 磁珠, 可稳定结合目标抗体; 通过与细胞裂解产物孵育可高效富集目的蛋白及其复合物中的 RNA; 通过 RNA 纯化可用于后续研究, 如 qRT-PCR、RNA-sequencing 等。

保存说明:

Dowobio™ RNA IP (RIP) Kit, Part I, 4°C储存 (勿冷冻)

RNA IP (RIP) Kit, Part II, -20°C储存。

操作说明:

描述: Dowobio™ RNA IP (RIP) Kit, 包含 Protein A/G Magnetic Beads, Dowobio™ RNA IP Lysis Buffer, RNA IP Buffer, RNase Inhibitor, 0.1 M DTT, 0.5 M EDTA, DNase I, Proteinase K, 10% SDS, Solution I, Solution II, Solution III, Nuclease -Free Water。

操作步骤:

细胞裂解及注意事项

1. 用标准的 RNA IP 裂解 buffer (Dowobio™ RNA IP Lysis Buffer) 并加入蛋白酶抑制剂处理细胞。
2. 至少需要 1×10^7 个细胞用于 RNA IP 实验。如被检测的 RNA 含量较低则需要更多的细胞。
3. 确保样品是新鲜的且无细菌等污染。
4. 制备好的样品(RNA IP Lysates)置于 -80°C 保存。

免疫复合物制备

1. 用 Dowobio™ RNA IP Kit 提供的试剂按照下表配制 RNA IP Mix:

试剂名称	体积 (μL)	终浓度
RNA IP Buffer	300	-
0.1 M DTT	10	1 μM
RNase Inhibitor	10	400 U
0.5 M EDTA	30	15 μM
RNA IP Lysates	500 μg	-



Antibody (Test or IgG)

5 µg

-

用 RNA IP Buffer 补足至 1mL

2. 4°C旋转反应 2 小时或过夜。

RNA IP

1. 将 Protein A/G Magnetic Beads 充分混匀，吸取 50 µL 于新的无菌无酶离心管中。
2. 将离心管置于磁力架上，收集磁珠并弃掉上清液。
3. 将离心管从磁力架上取出，加入 100 µL RNA IP Buffer (4°C预冷)，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 2 和 3，2 次。
6. 将离心管从磁力架上取出，加入 100 µL RNA IP Buffer (4°C预冷)，重悬磁珠。
7. 将离心管置于磁力架上，收集磁珠并弃掉上清液。
8. 将离心管从磁力架上取出，加入 1 mL RNA IP Mix，温和重悬磁珠。
9. 4°C旋转反应 2-4 小时。
10. 将离心管置于磁力架上，收集磁珠并弃掉上清液。
11. 将离心管从磁力架上取出，加入 500 µL RNA IP Buffer (4°C预冷)，温和混匀。
12. 将离心管置于磁力架上，收集磁珠并弃掉上清液。
13. 重复步骤 11 和 12，3 次。
14. 将离心管从磁力架上取出，加入 500 µL RNA IP Buffer (4°C预冷)，温和混匀。
15. 将离心管置于磁力架上，收集磁珠，将上清液转移至新的无菌无酶离心管中，用于后续分析。
16. 将离心管从磁力架上取出，加入 100 µL RNA IP Buffer (4°C预冷)于磁珠离心管，再加入 5 µL DNase I (2 U/µL)，温和混匀。
17. 37°C旋转反应 10 分钟。
18. 加入 500 µL RNA IP Buffer，温和混匀。
19. 将离心管置于磁力架上，收集磁珠并弃掉上清液。
20. 将离心管从磁力架上取出，加入 500 µL RNA IP Buffer，温和混匀。
21. 用 Dowobio™ RNA IP Kit 提供的试剂按照下表配制 Proteinase Mix:

试剂名称	体积 (µL)	终浓度
RNA IP Buffer	120	-
Proteinase K	15	150 µg
10% SDS	15	-

150 µL

22. 将离心管置于磁力架上，收集磁珠并弃掉上清液。
23. 将离心管从磁力架上取出，加入 150 µL Proteinase Mix，温和混匀。
24. 55°C旋转反应 20 分钟，或每 5 分钟温和重悬 1 次磁珠。
25. 将离心管置于磁力架上，收集上清液于新的无菌无酶水离心管，并加入 250µL RNA IP Buffer 至每管。

RNA Isolation

1. 加入 400 µL 酚:氯仿:异戊醇(25:24:1)至每管。
2. 涡旋 15 秒，室温 14,000 rmp 离心 10 分钟。



多沃生物

Dowobio Biotechnology Co., Ltd



3. 取 350 μL 上清液至新的无菌无酶离心管，并加入 400 μL 氯仿。
4. 涡旋 15 秒，室温 14000 rpm 离心 10 分钟。
5. 取 300 μL 上清液至新的无菌无酶离心管。
6. 分别在每管中加入 50 μL Solution I，15 μL Solution II，2 μL Solution III，以及 850 μL 预冷的无水乙醇。
7. 颠倒混匀，置于 -20°C 或 -80°C 至少 1 小时或过夜，以沉淀 RNA。
8. 将离心管 14,000 rpm， 4°C 离心 30 分钟，弃掉上清液。
9. 加入 80% 无水乙醇，14,000 rpm， 4°C 离心 15 分钟，弃掉上清液，空气干燥。
10. 用 10 - 20 μL Nuclease -free water 溶解 RNA 沉淀，置于冰上，或 -80°C 保存。

注意事项:

1. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
2. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

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