

## RNA 纯化柱II说明书

### 产品组成

Cat. No.	7304050
RNA 纯化柱II	50 个
2 ml 离心管	50 个
说明书	1 份

### 产品储存与有效期

产品储存于常温（0~30°C），可在两年内保持使用性能无明显降低。

### 技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

### 产品介绍

- 特别优选的吸附膜高效吸附 100 nt 以上的 RNA。
- RNA 饱和结合能力大于 50 µg。
- 极其稳定的核酸吸附性能，常温（0~30°C）放置两年无使用性能降低现象。

### 需自备的试剂与物品

1. RNAisol 试剂（Simgen Cat. No. 5301100）、氯仿或氯仿替代试剂 Buffer EX（Simgen Cat. No. 9025100）、70%乙醇（DEPC 处理水配制）、DEPC 水（Simgen Cat. No. 9003100）
2. 移液器及吸头（为避免 RNA 酶的污染，请选用含有滤芯的 RNase-free 移液器吸头）
3. RNase-free 的 1.5 ml 离心管
4. 乳胶手套、一次性口罩等防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 旋涡振荡器，液氮及研钵
7. 无 RNA 酶使用的 RNA 提取专用实验室

## 参考操作步骤

1. **生物样本的前处理**：在研钵中用液氮将约 300~500 mg 生物样本研磨至粉末状，再用液氮预冷的 1.5 ml 离心管称取约 100 mg 研磨成粉末状的样本，加入 1 ml RNAisol 试剂，勿弃吸头，直接用吸头吹打样本数次使细胞溶解，进入步骤 2 的操作。
2. **可选步骤**：若样品中含有较多蛋白质，脂肪，多糖或胞外物质（肌肉，植物结节部分等）可于 12000 rpm 离心 5 分钟，取上清。离心得到的沉淀中包括细胞外膜，多糖，高分子量 DNA，上清中含有 RNA。处理脂肪组织时，上层有大量油脂应去除。取澄清的匀浆液进行下一步操作。
3. 加入 200  $\mu$ l 氯仿或 Buffer EX，盖上管盖，用力摇晃 15 秒，12000 rpm 离心 15 分钟。
4. 吸取上层水相转移到一个洁净的 1.5 ml 离心管中，加入等体积的 70%乙醇，勿弃吸头，直接用吸头吸注两次混匀，进入步骤 5 的操作。
5. 吸取 600  $\mu$ l 混合液转移到 RNA 纯化柱II（RNA 纯化柱II置于 2 ml 离心管中）中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
6. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将 RNA 纯化柱II置回到 2 ml 离心管中，将 1.5 ml 离心管中剩余的液体全部倒入 RNA 纯化柱II中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
7. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将 RNA 纯化柱II置回到 2 ml 离心管中，在 RNA 纯化柱II中加入 700  $\mu$ l 70%乙醇，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
8. 重复步骤 7 一次。
9. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将 RNA 纯化柱II置回到 2 ml 离心管中，最高速离心 2 分钟去除残留乙醇。
10. 弃 2 ml 离心管，将 RNA 纯化柱II置于一个 RNase-free 的 1.5 ml 离心管中，在 RNA 纯化柱II中加入 50  $\mu$ l DEPC 水，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。
11. 弃 RNA 纯化柱II，洗脱的 RNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 RNA 储存于 -70°C 以下备用。