

RNA 纯化试剂盒

产品组成

RNA 纯化试剂盒	5 次样品	50 次制备
Cat. No.	5401005	5401050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
Buffer L	4 ml	32 ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	19 ml
Buffer WBR（浓缩液）	1.5 ml	15 ml
RNase-free Water	1.5 ml	2 ml × 3
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

产品如果储存于常温（0~30℃），可在三年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至三年以上。

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

本试剂盒为从 100~200 μl 酶反应体系或者含有杂质（比如盐份和酚/氯仿、糖原或多糖残留、蛋白质残留等）的 RNA 溶液中回收浓缩 RNA 而设计。纯化柱技术仅使大于 200 nt 的 RNA 结合到纯化柱上，盐份、多糖、蛋白等物质被过滤除去。RNA 可最终被洗脱到 50 μl 的微量体积中，并可立即用于 Northern 印迹、RT-PCR、芯片分析等各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇、可能需要自备 RNase-free 水
2. 1.5 ml 离心管（**必须**选用 DNase-free & RNase-free 的 1.5 ml 离心管）
3. 移液器吸头（**必须**选用含有滤芯的 DNase-free & RNase-free 移液器吸头）
4. 一次性手套、口罩、纸巾及防护用品
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）

使用前准备

1. 检查 Buffer L 是否有沉淀的结晶出现，如有沉淀请将 Buffer L 置于 70℃ 水浴至沉淀消失后再使用（**注意：当室温低于 20℃ 时 Buffer L 极易出现沉淀**）。
2. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
3. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WBR 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。
4. 因为唾液、皮肤上均含有 RNA 酶，请在 RNA 提取的全过程中都戴乳胶手套和口罩。

操作步骤

1. 向需要纯化的 RNA 溶液中加入 3 倍体积的 Buffer L，漩涡振荡混合均匀。

- * 比如需要纯化 100 μ l 酶反应产物，则需要加入 300 μ l Buffer L。
- * 如果需要纯化的 RNA 以沉淀形式存在，加入适量 RNase-free 水（用户自备）溶解 RNA，并将体积调整到 100~200 μ l 之间。

2. 加入 3.2 倍体积的无水乙醇，颠倒混合均匀。将混合液转移到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2 ml 离心管中），盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

- * 比如需要纯化 100 μ l 酶反应产物，则需要加入 320 μ l 无水乙醇。
- * 如果从大于 100 μ l 体积的酶反应产物中回收 RNA，请将混合液分两次离心过柱。

3. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中。在核酸纯化柱中加入 700 μ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

- * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。
- * 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

4. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中。在核酸纯化柱中加入 800 μ l Buffer WBR，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

- * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。
- * 确认在 Buffer WBR 中已经加入无水乙醇。

5. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

- * 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
- * 此步骤高速空离是为了去尽残留的乙醇，请勿省略，否则可能因所纯化的核酸中残留有乙醇而影响后续的实验效果。

6. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 RNase-free 的 1.5 ml 离心管中，加入 50-100 μ l RNase-free Water，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒洗脱 RNA。

- * 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将 1.5 ml 离心管的管盖剪去，以免管盖脱落而损伤离心机。

7. 弃纯化柱，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 $^{\circ}$ C 以下备用。