

RNA 纯化试剂盒（柱式法）使用说明书

【预期用途】

RNA 纯化试剂盒用于从核酸混合物中纯化 RNA，RNA 片段总回收率大于 80%。

【检验原理】

在结合缓冲液高盐低 pH 值的环境下，吸附柱内的硅胶膜高效吸附核酸；吸附的核酸经过 DNA 清除剂处理，硅胶膜表面只剩下 RNA；洗涤吸附柱，去除蛋白、盐等杂质；在洗脱液低盐高 pH 值的情况下，硅胶膜释放吸附的 RNA，从而达到快速纯化 RNA 的目的。

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-Pu03-1	结合缓冲液	14mL×1 瓶	28mL×1 瓶	56mL×1 瓶
	DNA 清除剂缓冲液	2mL×1 支	4mL×1 瓶	8mL×1 瓶
	RAW1 缓冲液	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶	48mL×2 瓶
	吸附柱（含收集管）	50 支	100 支	200 支
	洗脱液 A	3mL×1 瓶	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶
	3M 乙酸钠	0.5mL×1 支	1mL×1 支	2mL×1 支
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

所有成分：常温（10-30℃）运输保存，有效期 1 年。

【注意事项】 使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 结合缓冲液使用前必须加入异丙醇，使异丙醇浓度达到 30%。
2. 提前配制 RAW1，RAW1 中乙醇含量低于 60%会影响提取效果。
3. 提前配制80%乙醇水溶液，乙醇水溶液中乙醇含量低于80%会影响洗涤效果。
4. 提前配制DNA清除剂。
5. 结合缓冲液包含pH指示剂，其在 $\text{pH} \leq 7.5$ 时为黄色，缓冲液在较高pH下为橙色或紫色。吸附柱对RNA的吸附仅在 $\text{pH} \leq 7.5$ 时有效，吸附最佳pH在5.0至7.0之间。
6. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
7. 虽然本产品无氯仿、苯等OSHA规定的危险物品，但操作时最好做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
8. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

核酸混合物。

【自备器械和试剂】

小型高速离心机(最大离心力 $\geq 12,000 \times g$)、金属浴、1.5mL 离心管、DNase I (RNase-free)、无水乙醇和异丙醇等。

- **结合缓冲液配制：**使用前按瓶身标签说明加入异丙醇，使异丙醇含量为 30%，混匀后密封常温保存。
- **RAW1 配制：**RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：**1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。
- **DNA清除剂配制：**使用前在1mL DNA清除剂缓冲液中加入终浓度为 $0.1\text{U}/\mu\text{L}$ 的DNase I (RNase-free) (自备)。

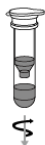
【快速操作流程】



加样



过柱



洗涤



DNA清除



洗涤



洗脱

1. 准备工作
 - 检查含异丙醇结合缓冲液是否配制。
 - 检查RAW1是否配制。
 - 检查DNA清除剂是否配制。
 - 检查80%乙醇水溶液是否配制。
2. 在1.5mL离心管中加入核酸产物和5倍核酸产物体积的结合缓冲液，混匀。
3. 检查混合液的颜色是否为黄色。如果混合液的颜色是橙色或紫色，加入 10 μ L 的 3M 乙酸钠混匀。
4. 将吸附柱放入收集管中，转移混合液至吸附柱。
5. 12,000 \times g离心1分钟。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。
6. 加入600 μ L RAW1，12,000 \times g离心20秒。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。
7. 加入40 μ L DNA清除剂。闭盖，金属浴中42 $^{\circ}$ C孵育5分钟。
8. 加入600 μ L RAW1，12,000 \times g离心20秒。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。
9. 加入600 μ L 80%乙醇水溶液，12,000 \times g离心20秒。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。
10. 加入600 μ L 80%乙醇水溶液，12,000 \times g离心20秒。取出吸附柱，丢弃收集管。
11. 将吸附柱放入新的1.5mL离心管中，12,000 \times g离心3分钟。取出吸附柱，丢弃离心管。
12. 将吸附柱放入新的1.5mL离心管中，加入50 μ L洗脱液A至吸附柱中心位置。闭盖室温静置1分钟，12,000 \times g离心1分钟，收集洗脱液。

【标准操作步骤】

1. 在 1.5mL 离心管中加入核酸产物和 5 倍核酸产物体积的结合液（使用前请确认已加入异丙醇），混匀。比如，50 μ L 核酸产物加入 300 μ L 结合缓冲液。

2. 检查混合液的颜色是否为黄色（类似于结合液的颜色）。如果混合液的颜色是橙色或紫色，加入10 μ L的3M乙酸钠混匀，使混合液的颜色变为黄色。

3. 将吸附柱放入收集管中，转移混合液至吸附柱中，闭盖12,000 \times g离心1分钟。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。

4. 开盖，在吸附柱中加入 600 μ L RAW1，闭盖 12,000 \times g，离心 20 秒。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。

5. 开盖，在吸附柱中心的膜上加入 40 μ L DNA 清除剂。闭盖，金属浴中 42 $^{\circ}$ C 孵育 5 分钟。

6. 开盖，在吸附柱中加入600 μ L RAW1，闭盖12,000 \times g离心20秒。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。

7. 开盖，在吸附柱中加入600 μ L 80%乙醇水溶液，闭盖12,000 \times g离心20秒。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。

8. 开盖，在吸附柱中加入600 μ L 80%乙醇水溶液，闭盖12,000 \times g离心20秒。取出吸附柱，丢弃收集管。将吸附柱放入新的1.5mL离心管中。

9. 闭盖12,000 \times g离心3分钟。取出吸附柱，丢弃离心管。

10. 将吸附柱放入新的1.5mL离心管中，加入50 μ L洗脱液A至吸附柱中心，闭盖室温静置1分钟，12,000 \times g离心1分钟，收集洗脱液，备用。

►洗脱液 A 的使用量可以根据需要调整，但用量不得低于 30 μ L。

►洗脱液的使用量太少会影响提取效果。

【说明书编制日期】 2024年01月25日

【基本信息】

企业名称: 无锡迈德泰克生物医药有限公司

公司地址: 江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道1699号生命科技产业园C5楼C50206室

网 址: www.wuxi-medtech.com

联系电话: 173 1562 0564 (刘经理)

