

RNA 纯化试剂盒（中和柱式法）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】

中和缓冲液清除 DNA，RNA 被吸附柱内的硅胶膜高效吸附，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 从而获得高质量的 RNA。

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-Pu03-2	中和缓冲液 M	7.5mL×1 瓶	15mL×1 瓶	30mL×1 瓶
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	吸附柱（含收集管）	50 支	100 支	200 支
	洗脱液 A	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶	80mL×1 瓶
	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. 提前配制 RAW1, RAW1 中乙醇含量低于 60%会影响提取效果。
2. 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。
3. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
4. 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。
5. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

≤100μL 的核酸混合物。

【自备器械和试剂】

小型高速离心机 (最大离心力≥12,000×g)、1.5mL 离心管、无水乙醇和异丙醇等。

- **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。

【快速操作流程】



加样

1. 准备工作

检查RAW1是否配制。

检查80%乙醇水溶液是否配制。



沉淀RNA

2. 在1.5mL离心管中加入 $\leq 100\mu\text{L}$ 的核酸产物和相应体积的洗脱液A，使总体积达到 $400\mu\text{L}$ ，混匀

3. 加入 $150\mu\text{L}$ 的中和缓冲液 M 和 $250\mu\text{L}$ 异丙醇，充分吹打混匀。

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。



过柱

6. 加入 $600\mu\text{L}$ 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 $600\mu\text{L}$ 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。



洗涤

8. 加入 $600\mu\text{L}$ 80%乙醇水溶液， $12,000\times g$ 离心20秒。取出吸附柱，丢弃收集管。

9. 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。



洗脱

10. 将吸附柱放入新的1.5mL 离心管中，加入 $50\mu\text{L}$ 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 $\leq 100\mu\text{L}$ 的核酸产物和相应体积的洗脱液 A, 使总体积达到 $400\mu\text{L}$, 混匀。

2. 加入 $150\mu\text{L}$ 的中和缓冲液 M 和 $250\mu\text{L}$ 异丙醇, 充分吹打混匀。

3. 将吸附柱放入收集管中, 转移所有液体至吸附柱。闭盖 $12,000\times\text{g}$ 离心 1 分钟。吸弃废液, 将吸附柱重新放入收集管中。

►转移液体时, 避免液体接触吸附柱的管口。

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

►加入 RAW1 时, 避免 RAW1 接触吸附柱的管口。

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

6. 开盖, 在吸附柱中加入 $600\mu\text{L}$ 80%乙醇水溶液, 闭盖 $12,000\times\text{g}$ 离心 20 秒。取出吸附柱, 丢弃收集管。

7. 闭盖 $12,000\times\text{g}$ 离心 3 分钟。取出吸附柱, 丢弃离心管。

8. 将吸附柱放入新的 1.5mL 离心管中, 加入 $50\mu\text{L}$ 洗脱液 A 至吸附柱中心。闭盖室温静置 1 分钟, $12,000\times\text{g}$ 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 $30\mu\text{L}$ 。

►洗脱液的使用量太少会影响提取效果。

【RNA 纯化（中和柱式法）常见问题】

常见问题	原因	解决方案
未提取到 RNA 或产量低	1. 样本使用量过少	增加样本使用量。
	2. 样本保存不当	采用新鲜、液氮保存的样本。
	3. 裂解液和中和缓冲液使用不当	按说明书正确加入裂解液和中和缓冲液。
	4. 异丙醇使用量过少或过多	按说明书准确加入异丙醇。
	5. RAW1 中乙醇添加比例不当	使用无水乙醇配制 RAW1, 使乙醇含量达 60%。
	6. 80%乙醇水溶液配制不当	使用无水乙醇配制 80%乙醇水溶液, 乙醇含量达 80%。
	7. 洗脱不当	洗脱液加至膜中央, 适当减少洗脱体积, 可 65°C 预热洗脱液、延长室温静置时间或者进行二次洗脱。
RNA 降解	1. 样本未及时保存或保存不当	采用新鲜、液氮保存的样本。
	2. 样本反复冻融	避免样本反复冻融, 分装保存。
	3. 电泳污染和环境污染	电泳前确保电泳槽、制胶板和电泳液无 RNase 污染, 如有污染, 使用洗洁精充分清洗电泳槽和制胶板, 再用 3%双氧水浸泡 20 min, 然后用 RNase-free ddH ₂ O 进行冲洗; 使用 RNase-free ddH ₂ O 配制电泳缓冲液。
纯度低	1. 盐离子残留	避免 RAW1 接触吸附柱上下口; 使用 80%乙醇水溶液再洗涤 1 次。
	2. 乙醇残留	最后一次洗涤后, 吸附柱闭盖 12,000×g 再离心 3 分钟。

【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)

