

# 操作手册

## 土壤/粪便 RNA 提取试剂盒

Catalog No. TR204-50 (50 次反应)

### Highlights

- 可在 10 分钟内快速从各种土壤或粪便样品中提取到最多 10 $\mu$ g 总 RNA。
- 产品无需使用蛋白酶 K,结合高密度裂解柱和纯化柱技术进行提取。
- 获得的 RNA 产量高、纯度好,可以直接用于酶切、PCR、芯片,高通量测序等分子生物学实验。

## 产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次
裂解管	室温	50 个
SF RNA 裂解液	室温	50 ml
RNA 结合液	室温	50 ml
RNA 预洗液	室温	2X25 ml
RNA 洗涤液	室温	25 ml
RNase-free H <sub>2</sub> O	室温	5 ml
3 号柱	室温	50 个
1 号柱	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	100 个
PCR 抑制物去除剂	室温	50 个

**Note** –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

## 注意事项:

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

## 特性:

- **样品:** 可有效的从 250mg 以内的土壤或粪便中提取到总 RNA。
- **RNA 纯度:** 获得的 RNA 产量高、纯度好，可以直接用 PCR，高通量测序等各种分子生物学实验。回收的 RNA 里可能会有微量的 DNA 残留，如要完全去除可用 DNase I 采用柱上消化方法。
- **操作时间:** 10 分钟。
- **操作温度:** 室温 (15-30°C)。

## 试剂制备

**RNA 洗涤液** 在使用之前一定要配好，添加 100ml 无水乙醇到 25ml 的 **RNA 洗涤液** 中并做好标记。

将**PCR抑制物去除柱**下端拧断并套在一个收集管内，去掉绿色的盖子，在8,000 x g下离心3分钟去除液体。如果抑

制物去除柱变干，则添加400-600ul的 DNase/RNase Free Water 到抑制物去除柱内并离心。

## **操作步骤:**

以下离心步骤的离心力均在10,000-16,000 x g下进行，除非特殊说明。

1. 直接添加 250mg 以内的植物样品到裂解管中，然后添加 1ml 的 SF RNA 裂解液到裂解管中，在涡旋仪上振荡 2 分钟以内混匀。（如果使用高频振荡器时间可以适当缩短）
2. 将裂解管离心 1 分钟。
3. 将上述步骤中 400μl 上清转移到一个干净的 1.5ml 离心管内，添加等体积的 RNA 结合液到离心管内，混匀。
4. 将上述步骤的混合物转移到 3 号柱内，3 号柱套在一个收集管内，在 3,000 x g 下离心 1 分钟。 **保留滤出液。**
5. 添加等体积（95-100%）的无水乙醇（约 800μl）到上一步（步骤 4）收集管中的滤出液中，混匀。
6. 将上述混合液（步骤 5）添加到一个新的 3 号柱中，3 号柱套在一个收集管内，离心 1 分钟。去除滤出液。
7. 添加 400μl RNA 预洗液到柱子中，离心 1 分钟。将柱子移至一个干净的 1.5ml 离心管中。
8. 添加 100μl 的 RNase-free H<sub>2</sub>O 到柱基质上，离心 1 分钟洗脱 RNA。
9. 把提前制备好的 PCR 去除柱套在一个干净的 1.5ml 离心管中，将洗脱的 RNA 放入 PCR 去除柱内，并在 8,000 x g 下离心 1 分钟。
10. 添加 200μl RNA 结合液到上述步骤（步骤 9）的滤出物中，混匀。
11. 添加 300μl（95-100%）的无水乙醇到上述混合液（步骤 10），混匀。
12. 将上述混合液（步骤 11）转移到 1 号柱中，1 号柱套在一个收集管内，离心 1 分钟。去除滤出液。
13. 添加 400μl RNA 预洗液到柱子中，离心 1 分钟。去除滤出液。
14. 添加 700μl RNA 洗涤液到柱子中，离心 1 分钟。去除滤出液。
15. 添加 400μl RNA 洗涤液到柱子中，离心 2 分钟确保完全去除洗涤液。
16. 将 1 号柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加 15μl 的 RNase-free H<sub>2</sub>O 到柱基质上，离心 1 分钟来洗脱 RNA，得到的 RNA 可进行后续 PCR，高通量测序等试验或放在-80℃以下保存。