

微生物RNA提取试剂盒

(使用说明书 Ver.1.1.0)

产品说明

- ✧ 可从粪便、土壤、水样、生物膜、拭子、唾液、生物体液中快速提取到高纯度的总RNA(含 micro RNA)。
- ✧ 该产品创新的裂解体系可以完美裂解格兰仕阳性菌、阴性菌、原生生物、藻类、真菌、病毒。
- ✧ 获得的RNA没有DNA污染，产量高、纯度好，可以直接用高通量测序等下游分子生物学实验。

产品货号：

TR2001 -50 (50次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	1
溶液制备	2
操作步骤	2
✧ 样品裂解匀浆	2
✧ 样品纯化	3

产品组份

试剂盒组成	50次	保存
裂解管	50个	室温
核酸保护剂	50 ml	室温
RNA裂解液	50 ml	室温
RNA预洗液	2X25 ml	室温
RNA洗涤液	24 ml	室温
抑制物去除液	30 ml	室温
DNase/RNase Free Water	30 ml	室温
DNase I(选配)	1管	-20℃
DNA消化液(选配)	4 ml	室温
抑制物去除柱	50个	室温
3号柱G	100个	室温
收集管（2ml）	150个	室温

注意事项

- ✧ 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。

产品特性

- ✧ 样品：可有效的从200mg以内的哺乳动物粪便，250mg以内土壤，200mg以内植物/种子和50-100mg（湿重）的真菌细菌细胞，生物膜和水样中有效的提取到细菌，真菌，原生物，病毒，线粒体和宿主RNA，
- ✧ RNA 纯度：获得的RNA产量高、纯度好， $A_{260}/A_{280}>1.8$ ， $A_{260}/A_{230}>1.8$ ，提供DNase I去除痕量的DNA，得到的RNA可应用于高通量测序等各种分子生物学实验。
- ✧ RNA大小：可回收到 ≥ 17 核苷酸的RNA。
- ✧ RNA产量：3号G的RNA最大结合能力为100 μ g。
- ✧

溶液制备

- ✧ RNA洗涤液 在使用之前一定要配好，添加好乙醇后在试剂瓶上做好标记！！
- ✧ 需要添加96ml100%的乙醇（或104ml 95%乙醇）到24ml的 RNA洗涤液中
- ✧ 试用装已经添加好无水乙醇，无需额外添加。
- ✧ 溶解冻干粉状态的DNase I需要按照管子上的量添加 RNase-free H₂O
- ✧ 一般250U的DNase I 需要添加275μl的DNase/RNase-free H₂O,终浓度为1U/μl

操作步骤:

整个操作步骤是由2个步骤组成：I) 样品裂解匀浆 II) 样品纯化

I) 样品裂解匀浆:

以下离心步骤均在10,000-16,000 x g下室温（20-30℃）离心30秒，如无特殊说明。

1. 直接添加样品到裂解管中，然后添加750μl的核酸保护剂到裂解管中，拧紧盖子防止泄漏，如果样品已经保存在添加了核酸保护剂的耗材中，则直接进行第二步。

样品类型	最大输入量
粪便	200mg
土壤	250mg
植物/种子	200 mg
液体样品	250μl
细胞 (重悬在核酸保护剂中或PBS等液体内)	50-100 mg (2x10 ⁹ 细菌，2x10 ⁸ 酵母细胞，2x10 ⁷ 哺乳动物细胞动物细胞)
核酸保护剂耗材	750μl

2. 在涡旋仪上最大速下振荡5分钟混匀。（如果使用高频振荡器时间可以适当缩短）
3. 离心裂解管1分钟。
4. 将上一步所得上清（最多400μl）加到一个干净的RNase-free的离心管里。进行下面的RNA纯化步骤。

II) 样品纯化

以下离心步骤均在10,000-16,000 x g下室温（20-30°C）离心30秒，如无特殊说明。

1. 直接添加2倍体积的RNA裂解液（~800μl）到样品中混匀。
2. 添加等体积的乙醇（95%-100%）~1200μl混匀。
3. 将上述混合物放入套在收集管上的3号柱G里，离心。去除滤出液。
4. 添加400μl的RNA预洗液到3号柱G里，离心。去除滤出液。
5. 添加400μl的RNA洗涤液到3号柱G里，离心。去除滤出液。
6. 添加85μl的DNase/RNase Free Water直接到柱基质上离心。
7. 添加10μl 的DNA消化液和5μl的DNase I与上一步洗脱下来的样品混合并且轻轻地混匀，在室温下（20-30°C）孵育15分钟。
8. 添加2倍体积的RNA裂解液到上述混合的消化物中。
9. 添加等体积的乙醇（95%-100%）混匀。
10. 将混合物添加到一个放入套在收集管上的新的3号柱G里，离心。去除滤出液。
11. 添加400μl的RNA预洗液到3号柱G里，离心。去除滤出液。
12. 添加700μl的RNA洗涤液到3号柱G里，离心。去除滤出液。
13. 添加400μl的RNA洗涤液到3号柱G里，离心2分钟完全去除洗涤液残留。
14. 取出3号柱G，放入一个无RNA酶的离心管中，在吸附膜的中间部位加100μl RNase-free water离心洗脱RNA。
15. 将抑制物去除柱套在一个收集管内，添加600μl的抑制物去除液，在 $\geq 8,000 \times g$ 下离心3分钟。
16. 将洗脱的RNA放入制备好的抑制物去除柱内，抑制物去除柱套在一个干净的1.5ml离心管内，并在16,000 x g下离心3分钟，得到的RNA可进行后续试验。