

FastPure Soil RNA Mini Kit Handbook

FastPure 土壤样品 RNA 小量提取试剂盒说明书

产品组成

FastPure Soil RNA Mini Kit		
产品编号	EK-1313-50T	EK-1313-100T
纯化次数	50 次	100 次
PowerBead Solution	200ml	400ml
Buffer RS1	14ml	28ml
Buffer IRS	60ml	120ml
Buffer RS3	90ml	180ml
Buffer RS4	360ml	720ml
Buffer RS5	220ml	440ml
Buffer RS6	60ml	120ml
Buffer RS7	10ml	20ml
RNA Midi Columns	50	100
15ml Collection Tubes	50	100
使用手册	1	1

产品介绍

本试剂盒可以快速地从小量土壤中提取总 RNA，其提取的总 RNA 纯度高，无蛋白质及其它杂质污染，可用于 RT-PCR、Real Time RT-PCR、mRNA 差异显示、引物延伸分析、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、Slot Blot、Poly A 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆等多种下游实验。本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床治疗、食品级化妆品等用途。

存储条件

室温干燥保存可至少稳定 12 个月。

需要额外准备的材料

- 苯酚:氯仿:异戊醇溶液 (25:24:1, v/v, pH6.5-8.0)
- 无水乙醇 (96%-100%)
- 无 RNase 酶的 1.5ml/15ml 离心管
- 无 RNase 酶的吸头
- 干净的手套
- 高速离心机
- 物理研磨设备

开始前注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

- Buffer IRS 在储存时可能会形成沉淀，如果有沉淀出现，请 60℃ 加热溶解后室温使用。
- 土壤总 RNA 提取中的离心过程常温进行即可。

操作步骤:

1. 在 15ml 无酶离心管中最多添加 2g 土壤。
2. 分别添加 2.5ml PowerBead 溶液, 0.25ml Buffer RS1 溶液和 0.8ml IRS 溶液。
3. 加入 3.5ml 苯酚/氯仿/异戊醇溶液 (pH 6.5-8.0) (自备)。
4. 将无酶离心管最大速度涡旋 15min, 直至两相层消失。
5. 停止涡旋后以 2500×g 室温离心 10min。
6. 将上层水相 (避免形成中间相和下层苯酚层) 转移到无酶 15ml 离心管中, 丢弃苯酚/氯仿/异戊醇等其它层液体。

注意: 在有机质含量高的土壤中, 两相层将很厚且牢固, 取样时需特别注意。

7. 向水相中加入 1.5ml Buffer SR3, 并涡旋混合。在 2-8°C 下孵育 10min, 然后在室温下以 2500×g 离心 10min。
8. 将上清液转移到新的 15ml 无酶离心管中, 注意不要吸到沉淀物 (如果有的话)。
9. 在离心管的上清液中加入 5ml Buffer SR4, 倒置或涡旋混合, 在室温下孵育 30min。
10. 以 2500×g 离心 30min。
11. 倒弃上清液, 将 15ml 的离心管在纸巾上倒置 5min 滤干残留液。
12. 摇匀 Buffer SR5 以混匀并向 15ml 离心管中添加 1ml。通过反复吹打或涡旋将沉淀完全重悬。

注意: 如果沉淀难以重悬, 请将试管置于 45°C 的加热块或水浴中 10min, 然后涡旋。重复直到沉淀重悬。

13. 为每个 RNA 分离样品准备一个核酸吸附柱 (按以下方法预先处理吸附柱):
 - 13a. 取下 15ml 收集管 (已提供) 的盖子, 并将核酸吸附柱放入其中。
 - 13b. 将 2ml Buffer SR5 添加到吸附柱中。让其完全重力流过, 并收集在 15ml 的收集管中。

在上样 RNA 分离样品之前, 请勿让色谱柱变干。

14. 将步骤 12 中的 RNA 分离样品添加到吸附柱上, 使其重力流过进入 15 ml 收集管。
15. 将 1 ml Buffer SR5 添加到吸附柱中, 并使其完全重力流入 15ml 收集管中。
16. 将核酸吸附柱转移到新的 15ml 收集管中。摇匀 Buffer SR6 溶液以混合, 然后向

吸附柱中加入 1ml 以洗脱结合的 RNA。使 Buffer SR6 重力流入 15ml 的收集管中。

17. 将洗脱的 RNA 转移到无酶 2ml 离心管中。加入 1ml Buffer SR4。至少颠倒一次以混匀, 在 -20°C 的温度下孵育至少 10min。
18. 将无酶 2ml 离心管以 13,000×g 离心 15min 以沉淀 RNA。
19. 倒出上清液, 然后将 2ml 离心管倒入纸巾中 10min 以风干沉淀。
20. 将 RNA 沉淀重悬于 100µl SR7 溶液中。

常见问题:**1. 可处理的土壤量**

本试剂盒处理最多 2g 的大多数土壤类型。对于有机质含量高的土壤, 1g 土壤通常可提供足够的 RNA, 同时降低纯化过程中 DNA 残留的可能性。对于沉积物样品, 可以使用更多的土壤, 最多可使用多达 5g 的沉淀物。您可以在步骤 9 中增加 Solution SR4 的体积, 使其与裂解液的体积相等。

2. 处理不同类型的土壤

RNA 的产量和纯度取决于处理的土壤类型。一些土壤和沉积物可能含有过多的盐分, 在步骤 10 之后, 这可以通过一个大的白色或黄色盐粒来观察。这种类型的沉淀可能会导致核酸产量降低。如果您有富含盐分的土壤或沉积物, 为了克服加入 Solution SR4 后颗粒中盐分的沉淀, 将样品在室温下孵育 30 分钟, 而不是 -20°C。按照协议其余部分的指示进行。