

Stool RNA Extraction Mini Kit

粪便 RNA 小量提取试剂盒

本产品适合于从粪便等样品中提取 RNA。试剂盒基于吸附柱纯化技术，在提取过程中根据吸附柱特定条件下与核酸特异性结合的特点，达到快速分离纯化核酸的效果。快速分离纯化过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 40~60 分钟，提取的 RNA 纯度高，稳定性好。

产品组份

产品编号	RNS482-01 (10 T)	RNS482-02 (50 T)	RNS482-03 (250 T)
Buffer STL	10 ml	30 ml	150 ml
Buffer PI	10 ml	30 ml	150 ml
Buffer VLG	15 ml	60 ml	270 ml
Buffer W1A	4.4 ml	13 ml	66 ml
Buffer W2R	5 ml	12 ml	2×30 ml
RNase Free Water	1.5 ml	10 ml	40 ml
NA Extraction Micro Columns	10	50	250
2ml Collection Tube	10	50	250
Glass Beads Tube I	10	50	250

保存条件

本产品除 Buffer PI 外，可在室温(15~25°C)保存 12 个月，长期保存时需置于 2-8°C。低温下，Buffer STL 可能会有沉淀形成，需 37°C 水浴让沉淀完全溶解。Buffer PI 储存于 4 度，用前请摇匀。

准备事项

- Buffer W2A 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

样品前处理：

1. 在研磨管(Glass Beads Tube I)中加入 0.1~0.2g 土壤样品，之后加入 500 μ l Buffer STL 及 500 μ l Buffer PI，最高速度涡旋混匀 10min，也可采用研磨仪进行混匀(具体参数根据仪器型号进行调整)。
2. 加入 500 μ l 氯仿，涡旋混匀，室温放置 5 分钟，13,000 \times g 离心 2 分钟。

纯化步骤

1. 转移上清液至 2ml 离心管中，加入 2 倍体积 VLG，颠倒 3~4 次，涡旋混匀 15 秒。
2. 把 NA Extraction Micro Columns 装在 2ml 收集管中。将混合液 (<750 μ l) 转移至过滤柱中。13,000 x g 离心 20 秒。
3. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。转移剩余混合液 (<750 μ l) 至柱子。13,000 x g 离心 20 秒。
4. 重复 2~3 步直至所有混合液过柱。
5. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer W1A(已用乙醇稀释)至柱子上。10,000 x g 离心 10 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500 μ l Buffer W2R(已用乙醇稀释)至柱子中，10,000 \times g 离心 10 秒。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500 μ l Buffer W2R(已用乙醇稀释)至柱子中，10,000 \times g 离心 10 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。13,000 x g 离心 2 分钟。

9. 将柱子转移至 1.5ml 离心管。加入 30~100 μ l RNase Free Water 至柱子膜中央。室温静置 3 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。
柱子最小的洗脱体积是 30 μ l，若 RNA 产量超过 30 μ g，推荐进行第二次洗脱。
10. 弃去柱子，把 RNA 保存于 -80 $^{\circ}$ C。

常见问题

1. RNA 产量低

- 样品前处理过程中必须涡旋足够长的时间充分打散样品。

2. 下游结果不理想

- **腐殖酸残留**：加入氯仿后必须充分涡旋混匀，经过离心后上清颜色应该明显变淡。
- **转移上清时注意尽可能避免吸入沉淀，导致 RNA 纯度下降。**
- **洗脱不充分**：可将洗脱液预热至 60°C 后再进行洗脱，提高洗脱效率。

3. 纯度低

- **洗涤不充分**：必要时可进行两次 W1A 洗涤，充分洗去杂质。
- **转移上清时注意尽可能避免吸入沉淀。**