

HiPure Soil RNA&DNA Midi Kit

土壤 RNA/DNA 中提试剂盒

产品简介

在环境样本 RNA/DNA 提取中，对提取效果影响最大的就是样本中广泛存在的腐殖酸等抑制因素。本试剂盒采用珠磨法和独特的缓冲液系统，适合于从不超过 3~5g 土壤、底泥、水体滤膜、发酵液残渣等环境样本中提取微生物 RNA 和总 DNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，纯化柱优选高性能的超细玻璃纤维滤膜为材料，高效专一吸附 RNA。得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern Blot、Poly A 纯化，核酸保护和体外翻译等实验。得到的 DNA 可直接用于 PCR、Southern 杂交等。

产品组成

产品编号	R5117-01	R5117-02	R5117-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
HiPure RNA Mini Column	10	50	250
HiPure DNA Mini Column II	10	50	250
2ml Collection Tubes	20	100	500
氧化锆珠(0.6-0.8mm)	60 g	270 g	5 x 270 g
塑料小勺子	2 个	4 个	10 个
Buffer STL	70 ml	350 ml	4 x 450 ml
Buffer PCI	70 ml	350 ml	4 x 450 ml
Buffer SL	25 ml	120 ml	550 ml
Buffer RLC	10 ml	50 ml	200 ml
Buffer GWP	10 ml	30 ml	150 ml
Buffer RW1	10 ml	30 ml	150 ml
Buffer RW2 *	6 ml	50 ml	3 x 50 ml
Nuclease Free Water	1.0 ml	15 ml	60 ml

版本号：202401

保存条件

本产品可在室温(15-25℃)保存 18 个月，长期保存时需置于 2-8℃。低温下，Buffer SDS 可能会有沉淀形成，55℃水浴让沉淀完全溶解。

需要准备材料和工具

- 无水乙醇(96-100%)
- 氯仿
- 用无水乙醇稀释 Buffer RW2，并于室温保存
- 用无水乙醇稀释 Buffer GW1，并于室温保存

方案：土壤样品总 RNA 和 DNA 同时提取

该方案适合于从 3~5g 土壤样品中提取总 RNA。

1. 在 15ml 离心管（自备）中，加入 5 勺（~5g）氧化锆珠（0.6-0.8mm），然后加入 3~5g 土壤、底泥、残渣、水体滤膜、或其它环境类生物样品。

干燥的环境类样品使用前，可以用筛网尽可能清除异物，如树叶、石头或小树枝）。对于非常干燥的材料，如果样品材料吸收过多的裂解缓冲液，控制样品并适量增加 Buffer STL 的用量。

对于非常潮湿的材料，在加入裂解缓冲液之前，可以离心后再去除多余的液体。

控制样品用量以确定离心管有足够的空间进行珠磨裂解细胞壁。通常起始材料的减少也有助于提高裂解效率和提高 RNA 的纯度。

2. 加入 6.0 ml Buffer STL 和 3.0ml Buffer PCI，盖紧盖子，在涡旋仪上最高速度涡旋混匀 10~15 分钟。
3. 室温下，4,000~5,000 x g 离心 10 分钟。
4. 转移 5.0ml 上清液至新的离心管中，加入 2.0 ml Buffer SL，涡旋混匀 10 秒。室温下，

4,000~5,000 × g 离心 10 分钟。

5. 转移上清液高速离心管中，加入等体积的异丙醇，涡旋混匀 15 秒，-20℃ 放置 10 分钟让 RNA 和 DNA 充分沉淀。
6. 4 度下，8000rpm 离心 20 分钟收集 DNA 和 RNA 沉淀，小心倒弃上清液，反扣于吸水纸上吸尽残液。
7. 加入 0.7ml Buffer RLC 至沉淀中，涡旋混匀 5~10 秒，室温放置 15 分钟让 DNA 和 RNA 充分溶解，其间涡旋数次让沉淀充分溶解。

吸附 DNA:

8. 把 HiPure DNA Mini Column III 装在 2ml 收集管中，把全部混合液转移至柱子中。10,000 × g 离心 1 分钟。保留滤液，按第 16 步进行 RNA 提取。
9. 把 DNA 柱子装回收集管中，加入 500µl Buffer GWP 至柱子中，10,000 × g 离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液把柱子装回收集管，加入 500µl Buffer RW2 至柱子。12,000 × g 离心 1 分钟。
11. 倒弃滤液把柱子装回收集管，加入 500µl Buffer RW2 至柱子。12,000 × g 离心 1 分钟。
12. 倒弃流出液，把柱子装回收集管。12,000 × g 离心 2 分钟。
13. 将 DNA 柱子装在 1.5ml 离心管中。加入 100µl 预热至 65℃ Nuclease Free Water 至柱子的膜中央，室温静置 5 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。
14. 再加入 50µl 预热至 65℃ Nuclease Free Water 至柱子的膜中央。室温静置 5 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。
15. 弃去 DNA 柱，把 DNA 保存于 2~8℃ 或 -20℃。

过柱纯化 RNA

16. 取第 8 步获得的滤液，加入 0.3 倍异丙醇，颠倒混匀 6-8 次。
17. 把 HiPure RNA Mini Column 装在 2ml 收集管中。转移 ≤700µl 混合液至柱子中。12,000

$\times g$ 离心 1 分钟。

18. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。转移剩余的混合液至柱子。12,000 $\times g$ 离心 1 分钟。
重复这一步直至全部混合液都转移至柱子并离心。
19. 倒弃滤液把柱子装回收集管，加入 500 μ l Buffer RW1 至柱子。12,000 $\times g$ 离心 1 分钟。
20. 倒弃滤液把柱子装回收集管，加入 500 μ l Buffer RW2 至柱子。12,000 $\times g$ 离心 1 分钟。
21. 倒弃滤液把柱子装回收集管，加入 500 μ l Buffer RW2 至柱子。12,000 $\times g$ 离心 1 分钟。
22. 倒弃流出液，把柱子装回收集管。12,000 $\times g$ 离心 2 分钟。
23. 将柱子转移至 1.5ml 离心管，加入 30-100 μ l Nuclease Free Water 至柱子膜中央，室温静置 2 分钟。12,000 $\times g$ 离心 1 分钟。
24. 弃去柱子，把 RNA 保存于 -80°C。