

HiPure Stool RNA Kit

粪便 RNA 提取试剂盒

产品简介

本产品是专门为粪便 RNA 提取而设计的。试剂盒适合于从 $\leq 0.2\text{g}$ 的粪便样品中提取高纯度的微生物或宿主细胞 RNA。试剂盒采用硅胶柱纯化技术和独创的溶液体系，可高效地去除粪便样品中的腐殖酸等抑制因子。纯化的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交等实验。

产品组份

| 产品编号 | R4185-01 | R4185-02 | R4185-03 |
|----------------------------|----------|----------|-----------|
| 纯化次数 | 10 次 | 50 次 | 250 次 |
| HiPure DNA Mini Columns II | 10 | 50 | 250 |
| HiPure RNA Mini Columns | 10 | 50 | 250 |
| 2ml Collection Tubes | 20 | 100 | 5 x 100 |
| 氧化锆珠(0.6-0.8mm) | 10 g | 50 g | 250 g |
| 塑料小勺子 | 2 个 | 4 个 | 10 个 |
| Buffer STL | 10 ml | 30 ml | 140 ml |
| Buffer SL | 1.0 ml | 3 ml | 15 ml |
| Buffer PCI | 5 ml | 20 ml | 90 ml |
| Buffer GDP | 10 ml | 30 ml | 120 ml |
| Buffer RW1 | 10 ml | 50 ml | 250 ml |
| Buffer RW2* | 5 ml | 20 ml | 2 x 50 ml |
| RNase Free Water | 1.8 ml | 15 ml | 30 ml |
| 说明书 | 1 | 1 | 1 |

版本号：2024-01

保存条件

本产品可在室温(15-25℃)保存 18 个月，收到产品 Buffer PCI 需置于 2-8℃ 保存，低温下 Buffer STL、GDP 可能有沉淀析出，需 55℃ 温浴溶解混匀再使用。

需要准备材料和工具

- 无水乙醇(96-100%)
- 按瓶子标签用无水乙醇稀释 Buffer RW2，并于室温保存

方案：从粪便样品提取微生物 RNA

该方案适合于从 50-100mg 粪便样品中提取 RNA，如细菌 RNA 或宿主 RNA。

1. 在 2ml 离心管中或螺口离心管中，加入 50~150mg 粪便样品以及一勺氧化锆珠 (0.6-0.8mm)。

本产品可以从新鲜和冷冻粪便样本中高效分离微生物和宿主基因组 RNA。人类粪便样本可能含有未消化的食物物质（例如，作物或水果壳，未消化的种子），这些颗粒最好不要转移。

动物的粪便样本，降低样本量可能会得到更好的结果。非常干燥的粪便样品，如兔或小鼠粪便，可能会吸收裂解缓冲液，导致离心后样品体积不足。在这些情况下，建议减少粪便物质的量，如 50-100mg。对于困难的粪便样本，如脂质、多糖或富含蛋白质的粪便，建议使用 60-80mg 材料开始提取，减少起始物质也可能提高裂解效率和 RNA 的纯度。

处理液体样品，建议取 0.2ml 进行操作，若样品中水份较多，可以取转移的样品离心后去除多余的水份，残渣和残液总体积不要超过 0.2ml。

采用珠磨仪或水平转子的涡旋仪时，建议使用螺口冻存管，以防止液体泄漏。

2. 加入 500µl Buffer STL, 50µl Buffer SL 和 300µl PCI 至样品，转移至涡旋仪上最高速度涡旋 10~15 分钟或珠磨仪进行快速珠磨 30-60 秒。
- 涡旋仪：推荐使用美基涡旋仪 MagMix A，这台涡旋仪带 2ml 离心管的夹具，可一次高效处理 10~20 个样品。裂解时间应尽可能短，以避免剪切的时间和尽量减少腐殖酸的释放。

- Powerlyzer 珠磨仪：建议 2000rpm 珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 2000rpm 珠磨 30 秒。
 - FastPrep24 珠磨仪：建议 5m/s，珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 5m/s 珠磨 30 秒。
 - Tissue Lysis II 珠磨仪：建议 25Hz 珠磨 5 分钟，重新调整位置后再 25Hz 珠磨 5 分钟。
3. 13,000 × g 离心 10 分钟。
 4. 转移 0.4ml 上清液至新的离心管中，加入 0.35ml Buffer GDP，颠倒混匀 6-8 次。
 5. 把 HiPure DNA Mini Column II 装在收集管中，转移全部混合液至柱子。13,000 × g 离心 1 分钟。
 6. 弃去 DNA 柱子，加入 0.4ml 无水乙醇至滤液中，吸打混匀 3~5 次。
 7. 把 HiPure RNA Mini Columns 柱装在收集管，转移一半体积的混合液至柱子。13,000 × g 离心 1 分钟。
 8. 倒弃滤液把柱子装回收集管，把剩余混合液转移至柱子。13,000 × g 离心 1 分钟。
 9. 倒弃滤液把柱子装回收集管，加入 500µl Buffer RW1。13,000 × g 离心 1 分钟。
 10. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 500µl Buffer RW2（已用乙醇稀释）。13,000 × g 离心 1 分钟。
 11. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 500µl Buffer RW2（已用乙醇稀释）。13,000 × g 离心 1 分钟。
 12. 倒弃流出液，把柱子装回收集管中。13,000 × g 离心 2 分钟。
 13. 将柱子装在 1.5ml 离心管中。加入 30-100µl RNase Free Water 至柱子的膜中央。放置 1 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。
 14. 丢弃 RNA 结合柱，保存于-80℃。

常见问题回答

该列表可能有利于解决您在提取过程中所碰到的问题。此外，Magen 的技术人员也可以随时为您提供服务，若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学上碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽能力为您排忧解难。

| 现象 | 原因及解决方法 |
|------------------------|--|
| 柱子堵塞 | |
| 样品起始用量太多 | 减少样品用量。正确的样品用量是获得理想结果的必要条件； |
| RNA 产量低 | |
| 洗脱效率不够 | 洗脱时 RNase Free Water 加到膜中央。洗脱体积不够。增加 RNase Free Water 洗脱的次数。 |
| Buffer RW2 中乙醇没有加入或加不够 | 按说明书或瓶子标签所示，加入正确的乙醇。 |
| 柱子没有空甩 | 柱子必须甩 2 分钟以去除膜上残留的乙醇。 |
| 样品消化不充分 | 推荐使用 2ml 匀浆管对样品进行匀浆，以提高粪便分散效果。 |
| 下游实验结果不理想 | |
| 盐分污染 | 加入 Buffer RW2 后，静置 5 分钟后，再离心 |
| 乙醇污染 | 确保空柱离心速度高于或等于 10,000rpm，离心时间为 10 分钟。 |
| 膜材料脱落 | 硅胶膜在离心过程中可能会发生脱落。脱落到溶液中硅胶膜是不溶解的，可能过 12,000xg 离心 2 分钟去除。 |