

## 土壤总 RNA 快速提取试剂盒

### Soil Total RNA Extraction Kit

(适用于从各种复杂的土壤、污泥中快速提取总 RNA)

#### 产品包装

LS、WS、ES 建议 4°C 储存, 其余成分室温储存。可至少稳定储存 12 个月

产品编号	产品名称	包装规格
YFXM0017	土壤总 RNA 快速提取试剂盒	50T

#### 试剂盒成分

名称	数量
Yfxbio® Mini Column (吸附柱)	50 个
Yfxbio® 2mL Colleciton Tube (收集管)	50 个
Yfxbio® BS (Column Balance Solution)	30mL
Yfxbio® LS (Lysis Solution)	50mL
Yfxbio® WS(Wash Solution)	50mL
Yfxbio® ES (Elution Solution)	15mL

#### 注意事项

1、详细阅读本说明书各步骤, 并准备好所有的试剂盒组分、研钵、研棒、药匙、1.5mL 和 2mL RNase-Free 灭菌离心管、75%乙醇、异丙醇、beta 巯基乙醇、37°C 和 65°C 的温浴条件。

2、相关器材的处理:

2.1 塑料制品: 尽可能使用一次性无菌塑料制品, 已标明 RNase-Free 的塑料制品, 未开封前可直接使用。未标明 RNase-Free 的塑料制品处理方式: 在玻璃杯中倒入去离子水, 加入 DEPC 至其终浓度为 0.1% (DEPC 活性很强的剧毒物, 需在通风橱中小心使用)。将待处理的塑料制品放入一个可高温高压灭菌的容器中, 倒入配制好的 DEPC 水, 使塑料制品的所有部分都浸泡在溶液中, 在通风橱中 37°C 或室温下处理过夜。将 DEPC 水小心倒入废液瓶中, 将处理过的塑料制品连同容器以铝箔封口, 高温高压灭菌 30min, 然后将塑料制品在 80°C 烘烤干燥, 置于洁净处备用。

2.2 玻璃和金属制品: 250°C 烘烤 3h 以上。

2.3 电泳槽等可以用 0.2M 的 NaOH 浸泡, 并用纯水漂洗。

2.4 RNase 另一污染源是移液器, 根据移液器制造商的要求对移液器进行处理。一般情况采用 DEPC 配制的 70%乙醇擦洗移液器的外部和内部, 基本达到要求。

2.5 全程佩戴一次性手套, 并经常更换。

#### 产品介绍

翼飞雪土壤总 RNA 提取试剂盒采用独特的疏水膜技术, 彻底去除样品中蛋白和 DNA 等干扰物, 从而提取高纯度的总 RNA。试剂盒采用独特的缓冲系统, 可从各种复杂的土壤、污泥中快速提取总 RNA。

本试剂盒提取得到的总 RNA 纯度较高, 去除抑制下游反应的物质, 避免因总 RNA 不纯引起实验失败。

## 提取步骤

### 柱子准备

1、取一 Yfxbio® Mini Column 吸附柱装在一个 2mLYfxbio® 2mL Colleciton Tube 内, 加入 500 $\mu$ L Yfxbio® BS 至柱子内, 室温 13000rpm 离心 1min, 弃收集管中的滤液, 将空柱套回收集管内。

注: 1) 本步骤可以明显提升提取 RNA 的纯度和产量, 不可省略。

2) 处理后的柱子可以保持一天内使用, 不影响使用效果。

### 样品裂解

2、取一 1.5mL 无酶离心管, 按照 1mL Yfxbio® LS: 10 $\mu$ L beta-巯基乙醇的比例充分混匀。

3、组织破碎, 根据不同条件选择适合的方法:

3.1 液氮研磨: 取 300-600mg 新鲜土样于研钵中, 加入适量液氮, 迅速研磨至土样破碎, 再加适量液氮研磨, 重复三次后, 将土样迅速转入 2mL 无酶离心管, 加入 700-1000 $\mu$ L Yfxbio® LS, 混匀 2min。

3.2 直接研磨: 将新鲜土样放入研钵, 按照 1mL Yfxbio® LS: 500mg 土样的比例混合后, 匀浆研磨, 转入一新的 1.5mL 无酶离心管。 (**推荐此法**)

注: 1) 绝大部分情况下, Yfxbio® LS 中不加入 beta 巯基乙醇, 对于提取效果没有明显影响。

2) 使用液氮研磨法时, 研磨和转移都要迅速, 且要保持样品始终为冻干状态。

3) 使用直接研磨法时, 可以在通风橱中进行, 避免 beta-巯基乙醇散发的恶臭味。

4、室温或 4 $^{\circ}$ C 条件下, 13000rpm 离心裂解液 5min。

### RNA 吸附

5、将上清液转移至新的 2mL 无酶离心管, 加入等体积的 70%乙醇, 充分颠倒混匀。

注: 70%乙醇必需是 DEPC 水现用现配。

6、将混合液 (包括可能的沉淀) 转移至已平衡的吸附柱内, 室温或 4 $^{\circ}$ C 条件下, 13000rpm 离心 30S, 弃去收集管中的滤液, 将吸附柱重新套入收集管中。

注: 混合液的上样量不可超过 700 $\mu$ L, 如混合液体积过大, 可分次上样。

### RNA 漂洗

7、向吸附柱中加入 700 $\mu$ L Yfxbio® WS, 室温或 4 $^{\circ}$ C 条件下, 13000rpm 离心 1min, 弃去收集管中的滤液, 将吸附柱重新套入收集管。

8、向吸附柱中加入 700 $\mu$ L 用 DEPC 水现配的新鲜 70%乙醇, 室温或 4 $^{\circ}$ C 条件下, 13000rpm 离心 1min, 弃去收集管中的滤液, 将吸附柱重新套入收集管。

注: 70%乙醇必需是 DEPC 水现用现配。

9、4 $^{\circ}$ C 条件下, 13000rpm 离心 2min, 甩干柱子基质中残留的液体。

注: 此步骤用以避免乙醇残留于 RNA 中, 从而对后续实验有严重影响。

### RNA 洗脱

10、把吸附柱套入一新的 1.5mL 无酶离心管, 加入 30-50 $\mu$ L Yfxbio® ES 至柱膜中央, 室温放置 2min, 4 $^{\circ}$ C 条件下, 13000rpm 离心 1min, 洗脱 RNA。

注: 1) ES 应提前预热至 65 $^{\circ}$ C, 且务必要加入到柱膜中间部位, 且确保全部覆盖柱膜。

2) 开启的 ES 可能不会一直保持 RNase-free 状态。可用自己信赖的 RNase-free 水代替开启后的 ES。

11、RNA 应尽快用于后续实验, 可短期储存于 -20 $^{\circ}$ C, 长期储存于 -70 $^{\circ}$ C。