

Soil RNA Extraction Mini Kit

土壤 RNA 小量提取试剂盒

本产品适合于从土壤等样品中提取 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 | RNS484-01 (10 Preps) | RNS484-02 (50 Preps) | RNS484-03 (250 Preps) |
|-----------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| Buffer STL | 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 |
| Buffer IRB | 3 ml | 12 ml | 60 ml |
| Buffer IRP | 3 ml | 12 ml | 60 ml |
| Buffer GLB | 6 ml | 30 ml | 150 ml |
| NA Extraction Micro Columns | 20 | 100 | 500 |
| 2ml Collection Tube | 20 | 100 | 500 |
| Glass Beads Tube I | 10 | 50 | 250 |

保存条件

本产品除 Buffer IRB 外，可在室温(15~25℃)保存 12 个月，长期保存时需置于 2-8℃。低温下，Buffer STL 及 Buffer GLB 可能会有沉淀形成，需 37℃水浴让沉淀完全溶解。Buffer IRB 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 0.5g 土壤样品，之后加入 1000μl Buffer STL，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. 13,000×g 离心 2 分钟，转移 800μl 上清至新的离心管中。加入 200μl Buffer IRB（用前请摇匀）至上清液中，再加入 200μl Buffer IRP，充分涡旋震荡混匀，冰上或 4℃ 放置 5 分钟，13,000x g 离心 3 分钟。待用。

纯化步骤

1. 转移 900μl 上清液至 2ml 离心管中，加入 600μl 无水乙醇，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(<750μl)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(<750μl)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 500μl Buffer GLB 至柱子，13,000 x g 离心 20 秒。
6. 弃去柱子，保留滤液。加入 250μl 无水乙醇至滤液中，用移液枪吹打混匀数次。
7. 把新的 NA Extraction Micro Columns 装在新的 2ml 收集管中。转移 ≤750μl 混合液至柱子中。13,000 x g 离心 1 分钟。

8. 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 \times g 离心 10 秒。
9. 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。
10. 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。
11. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。13,000 \times g 离心 2 分钟。
12. 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。
13. 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。
- 土壤中微生物含量较低，增大样品用量，等比例增加裂解液及结合液用量。

2. 下游结果不理想

- **腐殖酸残留**：加入 Buffer IRB 后必须充分涡旋混匀，对于腐殖酸含量高的样品冰浴不可省略，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℃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。**