

## 粪便 RNA 提取试剂盒说明书

货号: R1290

规格: 50T/100T

保存: 本试剂盒可常温运输, 室温 (10-30°C) 保存, 有效期为 12 个月, 消化液请于-20°C存放, 避免反复冻融。

试剂盒组成:

组分	50 T	100 T
吸附柱和收集管	各50个	各100个
裂解液	11 mL	22 mL
洗涤液A	21 mL	21 mL×2
洗涤液B	9mL×2	9mL×4
洗脱液	2.2 mL	4.4 mL
消化液	1.1 mL	2.2 mL
说明书	1 份	1 份

产品简介:

粪便 RNA 提取试剂盒是专门为从粪便中提取基因组 RNA 而设计, 适用于不同来源的固态或液态粪便样本。本试剂盒采用了最新的离子膜技术并反复优化了裂解液和洗脱液配方, 提取得到的 RNA 纯度更高, 最大限度地去除了蛋白、色素、脂类、杂质污染, 可以直接应用于 Northern 杂交、RT-PCR、Real Time RT-PCR、cDNA 文库构建、体外翻译等各种常规分子生物学实验。

产品特点:

- 1、提取 RNA 纯度高, 无抑制剂, A260/A280 为 1.8-2.0。
- 2、产率高, 同样的样本量提取的 RNA 更多。
- 3、操作简便快速, 粪便预处理后, 可在 20 分钟内完成操作。

操作步骤 (仅供参考):

1. 请自行准备: 无水乙醇、异丙醇、PBS、1.5mL RNase-free 灭菌离心管。
2. 取出洗涤液, 按以下操作:
  - (1) 洗涤液A: 21mL加入9mL无水乙醇, 混匀。
  - (2) 洗涤液B: 9mL加入21mL无水乙醇, 混匀。
  - (3) 配制好的析出液及洗涤液如出现沉淀, 可在 37°C溶解, 摇匀后使用。
3. 取200mg的粪便于1.5mL RNase-free灭菌离心管中 (若粪便样本为液态, 取200μL于离心管中), 加入1mLPBS充分振荡混匀, 300g离心5分钟, 收集上清。取收集的上清液0.9mL于1.5mL RNase-free 灭菌离心管中, 12000 rpm离心5分钟, 弃0.8mL上清, 振荡重悬剩余沉淀和液体。a) 对于革兰氏阴性菌和一般的革兰氏阳性菌、肠道脱落细胞, 直接进行步骤4操作; b) 对于细菌壁较厚的革兰氏阳性菌、真菌、细菌芽孢等须首先进行破壁处理, 可将上述沉淀用少许液氮反复研磨 3 次, 再进行步骤 4 操作。

4. 加入200 $\mu$ L裂解液，20 $\mu$ L消化液，充分振荡混匀，65 $^{\circ}$ C水浴10分钟。
5. 加入450 $\mu$ L异丙醇，轻轻颠倒混匀，如有半透明悬浮物，不影响RNA的提取与后续实验。
6. 将吸附柱放入收集管内，将上述溶液全部转入吸附柱内，12,000 rpm，4 $^{\circ}$ C离心1分钟，弃收集管内废液。
7. 将吸附柱放回收集管内，加500 $\mu$ L洗涤液A至吸附柱内，静置1分钟，12,000 rpm，4 $^{\circ}$ C离心1分钟，弃收集管内废液。
8. 将吸附柱放回收集管内，加500 $\mu$ L洗涤液B至吸附柱内，12,000 rpm，4 $^{\circ}$ C离心1分钟，弃收集管内废液。
9. 将吸附柱放回收集管内，加500 $\mu$ L洗涤液B至吸附柱内，12,000 rpm，4 $^{\circ}$ C离心1分钟，弃收集管内废液。
10. 按每份样本40 $\mu$ L取洗脱液（如10份提取样本，即取400 $\mu$ L洗脱液），放置于灭菌1.5mL离心管，65 $^{\circ}$ C预热。
11. 将吸附柱放回收集管内，12,000 rpm，4 $^{\circ}$ C离心2分钟，离去残留的洗涤液。
12. 取出吸附柱，放入新的1.5mL RNase-free灭菌离心管内，在吸附柱中心加入40 $\mu$ L预热洗脱液，静置2分钟，12,000 rpm，4 $^{\circ}$ C离心1分钟，收集RNA溶液。提取的RNA即可用于下一步实验或-70 $^{\circ}$ C保存。

#### **注意事项：**

- 1、裂解液、洗涤液含有刺激性化学物质，操作过程请做好防护措施，避免直接接触皮肤，防止吸入口鼻。如不慎沾染皮肤或眼睛，请立即用清水或生理盐水冲洗，必要时请就医。
- 2、为防RNA酶污染，实验过程中最好戴一次性干净手套、口罩，使用处理过的无RNA酶的容器和无RNA酶的超纯水。
- 3、提取的RNA如暂不使用，应-70 $^{\circ}$ C保存。