

土壤RNA提取试剂盒说明书

货号：400-107

产品保存

HAR Buffer 1存储条件为4℃；其余组分均可室温（15-25℃）存储，保质期为一年。室温运输。

产品简介

本产品适用于各种类型土壤和粪便样品的总RNA提取。本试剂盒将硅胶柱纯化技术与高效的腐殖酸去除方案相结合，能够高效的去除腐殖酸等抑制因子获得高质量的RNA。所得RNA产物可直接用于PCR和qPCR等实验。

产品组成

货号	组分	规格
400-107A	SRL buffer	28 mL
400-107B	CFS buffer	22 mL
400-107C	HAR Buffer 1	2.2 mL
400-107D	HAR Buffer 2A	4 mL
400-107E	HAR Buffer 2B	4 mL
400-107F	DNA Binding Buffer	20 mL
400-107G	RNA Binding Buffer	39 mL
400-107H	Washing Buffer 1	18 mL
400-107I	Washing Buffer 2	16mL
400-107J	Elution Buffer	3 mL
400-107K	gDNA清除柱（含收集管）	50套
400-107L	RNA结合柱（含收集管）	50套
400-107M	玻璃珠1	14 g
400-107N	玻璃珠2	14 g

用户自备

试剂：无水乙醇、水饱和酚。

仪器及耗材：台式高速离心机、涡旋仪、珠磨仪（推荐使用）、2 mL 和1.5 mL RNase Free离心管。

实验前准备

按照下表提示，使用【无水乙醇】对Washing Buffer 1和Washing Buffer 2进行稀释，稀释后室温保存。

组分	无水乙醇加入量
Washing Buffer 1	12 mL
Washing Buffer 2	64 mL

- HAR Buffer 2A 是白色固体悬浊液，使用前摇匀吸取即可；
- 当贮存温度较低时，SRL buffer易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于55℃中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
- CFS buffer含有低毒性的有机化合物，具有一定的挥发性，请置于干燥且通风良好处存储；

使用说明

1. 分别称量200 mg 玻璃珠1和玻璃珠2到2 mL离心管中，再加入0.5 g土壤样品。
2. 往离心管中分别加入500 μ L SRL buffer、40 μ L HAR Buffer 1、400 μ L水饱和酚（需自备）和400 μ L CFS buffer到样品中，高速涡旋10 min；为了获得更好的效果，建议使用珠磨仪，例如：FastPrep-24。
3. 室温条件下13,000 g 离心 5 min。
4. 分别加入70 μ L HAR Buffer 2A和HAR Buffer 2B到新的2 mL离心管中，然后加入350 μ L上清液，涡旋混匀，冰上静置3 min。
5. 室温条件下13,000 g 离心2 min，小心转移350 μ L 上清液到新的2 mL 离心管中。
6. 加入等体积DNA Binding Buffer，涡旋混匀。
7. 将DNA吸附柱套入收集管中，转移第6步混合液到结合柱中，室温13,000 g 离心30 sec，弃结合柱，保留滤液。
8. 往滤液中加入等体积的RNA Binding Buffer，吸打混匀。
9. 将RNA吸附柱套入新的收集管中，转移第8步中的混合液700 μ L到结合柱中，室温13,000 g 离心 30 sec，弃滤液。
10. 重复步骤9直至步骤8所有的混合液都通过结合柱。
11. 将RNA吸附柱套入收集管中，加入500 μ L Washing Buffer 1至结合柱中，13,000 g 离心30 sec，弃滤液。
12. 将RNA吸附柱套回收集管中，加入700 μ L Washing Buffer 2至结合柱中，13,000 g 离心30 sec，弃滤液。
13. 重复步骤12。
14. 将RNA吸附柱套回收集管中，13,000 g 离心空甩2 min。 弃去滤液。
15. 将RNA吸附柱套入新的1.5 mL 离心管中，加入30-50 μ L Elution Buffer至结合柱中，室温放置1-2 min，然后13,000 g 离心 1 min 洗脱RNA。
16. RNA 放置-80℃保存。

常见问题与解决方案

1. RNA产量低

- a. 样本RNA含量低：不同的土壤样本RNA含量差异较大。对于RNA含量低的样本可适当增加样本量。
- b. 样本裂解不充分：研磨不充分，建议采用研磨仪进行研磨，若采用涡旋仪研磨则需将速度调至最大；样本投入量过多，导致裂解不充分，需适当减少样本量或按比例增加裂解液用量。
- c. Washing Buffer 1和Washing Buffer 2未按要求加入无水乙醇：使用前需确认是否已加入无水乙醇。

2. RNA降解

- a. 样本用量太多：适当减少样本投入量或按比例增加裂解液用量。
- b. RNase酶污染：在操作前对工作台面进行RNase酶去除处理，同时采用无RNase酶的实验耗材和器具。

3. RNA纯度低

- a. 腐殖酸污染：降低样本裂解时的环境温度以减少腐殖酸的释放；增加HAR buffer 2A/2B用量；但这两种措施会在一定程度上减少RNA产量。
- b. 盐污染：加入Washing Buffer 1后静置5 min，然后离心。

注意事项

1. 第一次使用前请先在Washing Buffer 1和Washing Buffer 2中分别加入指定量无水乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
2. 使用本产品时应注意做好个人防护，如防护服装、手套、眼罩、面罩等。
3. 本试剂盒仅供科学研究使用。