

Version: AC 4.0 (2022.03.01修订)

SPARKeasy soil RNA Kit

中量土壤RNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AC0801

01/产品组分

| 序号 | 组分 | 10 次 AC0801 |
|----|-------------------------|------------------------------|
| 1 | DNA 吸附柱 | 10 个 |
| 2 | RNA 吸附柱 | 10 个 |
| 3 | 15 mL 收集管 | 20 个 |
| 4 | 玻璃珠 I (0.1-0.2 mm) | 12 g |
| 5 | 玻璃珠 II (0.4-0.6 mm) | 12 g |
| 6 | 缓冲液 SLX | 25 mL |
| 7 | HTR2 试剂 | 3 mL |
| 8 | 缓冲液 SP2 | 3 mL |
| 9 | 结合缓冲液 | 25 mL |
| 10 | RNA 结合缓冲液 | 50 mL |
| 11 | 漂洗缓冲液 RWC | 35 mL |
| 12 | RNA 漂洗缓冲液 II | 15 mL 第一次使用前加入 60 mL 无水乙醇 |
| 13 | DEPC 水 | 25 mL |
| 14 | RNase-Free 收集管 (1.5 mL) | 50 个 |

02/保存条件

本试剂盒所有组分室温 (15-25℃) 保存。

03/产品概述

本试剂盒可快速、可靠地从各种土壤样品中分离出高质量的总 RNA，将柱基质的可逆核酸结合特性与专有的土壤核酸纯化技术相结合，去除了土壤样品中的腐殖酸和黄腐酸等抑制剂化合物。纯化的 RNA 可适用于大多数下游实验，例如 RT-PCR。该产品可在 80 min 内完成样品 RNA 的提取，提取的总 RNA 完整性好，无蛋白和基因组 DNA 污染。

04/自备材料

无水乙醇、水饱和苯酚、氯仿、异丙醇、3 M NaAc (pH 5.2)

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 第一次使用前请先在 RNA 漂洗缓冲液 II 中加入指定量 (60 mL) 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!
- ◇ 水饱和苯酚的制备: 将固体苯酚置于预设为 75°C 的水浴中直至苯酚完全溶解, 加入等体积的分子生物级水, 摇匀混匀。将溶液在室温下储存 4 h 至过夜, 直至水相 (上层相) 和酚相 (下层相) 明显分离。用移液管移除水相。

06/使用方案

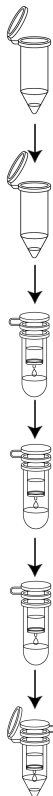
1. 称量 1 g 玻璃珠 I 和 1 g 玻璃珠 II 加入 15 mL 离心管中, 再加入 2.5 g 土壤样品。
2. 向土壤样品加入 2 mL 缓冲液 SLX 和 200 μ L HTR2 试剂。
 - ▲使用前摇动 HTR2 试剂重悬。
3. 加入 2 mL 水饱和的苯酚, 以最大速度涡旋 10 min。
 - ▲为获得最佳效果, 请使用玻璃珠混合器, 如 FastPrep-24。
4. 加入 2 mL 氯仿, 以最大速度涡旋 1 min。
5. 4°C、4,000 \times g 离心 10 min 以分离水相和有机相。
 - ▲样品应分为 3 层: 含有 RNA 和 DNA 的上层水相 (通常为深棕色); 浅色有机相由苯酚/氯仿组成; 较低的不溶性土壤和碎屑相。
6. 小心地将上层水相转移到新的 15 mL 离心管中, 将 0.1 体积的缓冲液 SP2 和等体积的结合缓冲液加入样品中。
7. 将步骤 6 的混合物样品加入 DNA 吸附柱中, 以 4,000 \times g 离心 5 min。
8. 丢弃 DNA 吸附柱并向滤液中加入等体积的 RNA 结合缓冲液, 将离心管反复颠倒 10-30 次, 彻底混合。
9. 将步骤 8 的 4.5 mL 混合物样品转移到 RNA 吸附柱中, 以 4,000 \times g 离心 5 min, 丢弃滤液。
10. 用剩余的样品重复步骤 9, 弃去滤液和收集管。
11. 将吸附柱放入新的 15 mL 离心管中, 将 3 mL 漂洗缓冲液 RWC 加入柱中, 以 4,000 \times g 离心 5 min, 弃去滤液并重新使用离心管。
12. 将 3 mL RNA 漂洗缓冲液 II 加入柱中, 以 4,000 \times g 离心 5 min, 弃去滤液并重新使用离心管。
13. 再加入 3 mL RNA 漂洗缓冲液 II 重复步骤 12, 弃去滤液并重新使用离心管。
14. 将吸附柱放回收集管中, 并以 4,000 \times g 离心空柱 10 min。
 - ▲从 RNA 吸附柱中洗脱 RNA。
 - ▲可选: 对于大产量和高浓度的 RNA, 参见洗脱的替代方案; 对于快速洗脱, 进行步骤 15-17。
15. 将 RNA 吸附柱置于新的 15 mL 离心管中。

16. 在吸附柱的中心加入200 μL DEPC水，在室温下孵育1 min。
17. 以4,000 \times g离心5 min以洗脱RNA。

附录：洗脱 RNA 的替代方案

1. 将RNA吸附柱置于干净的15 mL离心管中，将500 μL DEPC水加到柱基质上，以4,000 \times g离心3 min以洗脱RNA。
2. 小心地将洗脱的RNA从15 mL离心管转移到干净的1.5 mL离心管中，加入50 μL 3 M NaAc (pH 5.2) 和500 μL 室温异丙醇，涡旋混合，4 $^{\circ}\text{C}$ 、>15,000 \times g离心30 min，小心弃去上清液。
3. 用1 mL冰冷的70%乙醇洗涤DNA沉淀一次，并以>15,000 \times g离心10 min，小心弃去上清液，将沉淀空气干燥5-10 min。
4. 最后在30-50 μL （取决于所需的最终产物浓度）DEPC水中重悬RNA沉淀。

07/流程简图



裂解：2.5 g土壤样品加入含有**1 g玻璃珠I**和**1 g玻璃珠II**的15 mL离心管内
2 mL **缓冲液SLX**和200 μL **HTR2试剂**
加入2 mL水饱和的苯酚，以最大速度涡旋10 min

分层：2 mL氯仿，以最大速度涡旋1 min
4 $^{\circ}\text{C}$ ，4,000 \times g离心10 min

去DNA：转移上层水相至新15 mL离心管
0.1体积**缓冲液SP2**和0.1体积**结合缓冲液**
转移混合液至**DNA吸附柱**，4,000 \times g离心5 min

结合：收滤液，等体积的**RNA结合缓冲液**，反复颠倒混匀
分次转移混合物至**RNA吸附柱**，4,000 \times g离心5 min，弃滤液

去蛋白：3 mL **漂洗缓冲液RWC**，4,000 \times g离心5 min
漂洗：3 mL **RNA漂洗缓冲液II**，4,000 \times g离心5 min，重复一遍
去残留乙醇：4,000 \times g空甩10 min

洗脱：200 μL **DEPC水**，室温1 min
4,000 \times g离心5 min，长期储存-70 $^{\circ}\text{C}$

08/相关产品

AC0802 SPARKeasy 土壤RNA提取试剂盒

AG0304 SPARKscript II RT Plus Kit (With gDNA Eraser)

AH0104 2×SYBR Green qPCR Mix (With ROX)

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

