

HiPure Stool RNA Kit

粪便 RNA 提取试剂盒

产品简介

本产品是专门为粪便 RNA 提取而设计的。试剂盒适合于从 $\leq 0.2\text{g}$ 的粪便样品中提取高纯度的微生物或宿主细胞 RNA。试剂盒采用硅胶柱纯化技术和独创的溶液体系，可高效地去除粪便样品中的腐殖酸等抑制因子。纯化的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交等实验。

产品组份

产品编号	R4185-01	R4185-02	R4185-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
HiPure DNA Mini Columns II	10	50	250
HiPure RNA Mini Columns	10	50	250
2ml Collection Tubes	20	100	5 x 100
氧化锆珠(0.6-0.8mm)	10 g	50 g	250 g
塑料小勺子	2 个	4 个	10 个
Buffer STL	10 ml	30 ml	140 ml
Buffer SL	1.0 ml	3 ml	15 ml
Buffer PCI	5 ml	20 ml	90 ml
Buffer GDP	10 ml	30 ml	120 ml
Buffer RW1	10 ml	50 ml	250 ml
Buffer RW2*	5 ml	20 ml	2 x 50 ml
RNase Free Water	1.8 ml	15 ml	30 ml
说明书	1	1	1

版本号：2024-01

保存条件

本产品可在室温(15-25℃)保存 18 个月，长期保存时需置于 2-8℃。

方案. 从粪便样品提取微生物 RNA

该方案适合于从 50-100mg 粪便样品中提取 RNA，如细菌 RNA 或宿主 RNA。

1. 在 2ml 离心管中或螺口离心管中，加入 50~150mg 粪便样品以及一勺氧化锆珠 (0.6-0.8mm)。

本产品可以从新鲜和冷冻粪便样本中高效分离微生物和宿主基因组 RNA。人类粪便样本可能含有未消化的食物物质（例如，作物或水果壳，未消化的种子），这些颗粒最好不要转移。动物的粪便样本，降低样本量可能会得到更好的结果。非常干燥的粪便样品，如兔或小鼠粪便，可能会吸收裂解缓冲液，导致离心后样品体积不足。在这些情况下，建议减少粪便物质的量，如 50-100mg。对于困难的粪便样本，如脂质、多糖或富含蛋白质的粪便，建议使用 60-80mg 材料开始提取，减少起始物质也可能提高裂解效率和 RNA 的纯度。

处理液体样品，建议取 0.2ml 进行操作，若样品中水份较多，可以取转移的样品离心后去除多余的水份，残渣和残液总体积不要超过 0.2ml。

采用珠磨仪或水平转子的涡旋仪时，建议使用螺口冻存管，以防止液体泄漏。

2. 加入 500µl Buffer STL, 50µl Buffer SL 和 300µl PCI 至样品，转移至涡旋仪上最高速度涡旋 10~15 分钟或珠磨仪进行快速珠磨 30-60 秒。

- 涡旋仪：推荐使用美基涡旋仪 MagMix A，这台涡旋仪带 2ml 离心管的夹具，可一次高效处理 10~20 个样品。裂解时间应尽可能短，以避免剪切的时间和尽量减少腐殖酸的释放。
- Powerlyzer 珠磨仪：建议 2000rpm 珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 2000rpm 珠磨 30 秒。
- FastPrep24 珠磨仪：建议 5m/s，珠磨 30 秒，暂停 30 秒，再 5m/s 珠磨 30 秒。
- Tissue Lysis II 珠磨仪：建议 25Hz 珠磨 5 分钟，重新调整位置后再 25Hz 珠磨 5 分钟。

3. 13,000 x g 离心 10 分钟。

4. 转移 0.4ml 上清液至新的离心管中，加入 0.35ml Buffer GDP，颠倒混匀 6-8 次。

5. 把 HiPure DNA Mini Column II 装在收集管中，转移全部混合液至柱子。13,000 × g 离心 1 分钟。
6. 弃去 gDNA 柱子，加入 0.4ml 无水乙醇至滤液中，吸打混匀 3~5 次。
7. 把 RNA 柱装在收集管，转移一半体积的混合液至柱子。13,000 × g 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液把柱子装回收集管，把剩余混合液转移至柱子。13,000 × g 离心 1 分钟
9. 倒弃滤液把柱子装回收集管，加入 500µl Buffer RW1。13,000 × g 离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 500µl Buffer RW2。13,000 × g 离心 1 分钟。
11. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 500µl Buffer RW2。13,000 × g 离心 1 分钟。
12. 倒弃流出液，把柱子装回收集管中。13,000 × g 离心 2 分钟。
13. 将柱子装在 1.5ml 离心管中。加入 30-100µl RNase Free Water 至柱子的膜中央。放置 1 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。
14. 丢弃 RNA 结合柱，保存于-80℃。

常见问题回答

该列表可能有利于解决您在提取过程中所碰到的问题。此外，Magen 的技术人员也可以随时为您提供服务，若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学上碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽能力为您排忧解难。

现象	原因及解决方法
柱子堵塞	
样品起始用量太多	减少样品用量。正确的样品用量是获得理想结果的必要条件；
RNA 产量低	
洗脱效率不够	洗脱时 RNase Free Water 加到膜中央。DEPC Water 的洗脱体积不够。增加 RNase Free Water 洗脱的次数。
Buffer RW2 中乙醇没有加入或加不够	按说明书或瓶子标签所示，加入正确的乙醇。
柱子没有空甩	柱子必须甩 2 分钟以去除膜上残留的乙醇。
样品消化不充分	推荐使用 2ml 匀浆管对样品进行匀浆，以提高粪便分散效果。
下游实验结果不理想	
盐分污染	加入 Buffer RW2 后，静置 5 分钟后，再离心
乙醇污染	确保空柱离心速度高于或等于 10,000rpm，离心时间为 10 分钟。
膜材料脱落	硅胶膜在离心过程中可能会发生脱落。脱落到溶液中硅胶膜是不溶解的，可能过 12,000xg 离心 2 分钟去除。