天净沙系列

CAT#:901109

常温运输和保存

天净沙

粪便 RNA 纯化试剂盒（过柱法）

Fecal RNA Purification Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

由于粪便中有机质含量丰富，对 RT-PCR 等后续反应有极大的抑制作用，所以从粪便中提取高纯度的 RNA 一直是十分棘手的问题。本产品是在天恩泽基因粪便 RNAout 基础上开发的柱式粪便 RNA 提取产品，它具有下列特点：

1. 操作比非柱式法更加简单快速，处理一个样品只需要约十几分钟。
2. 去污染效果好，RNA 纯度更高，平均 OD260/280 一般都在 2.0 左右。
3. 得到的 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 杂交、cDNA 合成等实验。
4. 性价比高于进口的柱式粪便 RNA 提取产品。
5. 试剂无毒无害，环保。

规格及成分

本产品采用大扁盒包装

成份	编号	规格	包装材料
粪便 RNA 纯化溶液 A	901109a	50 mL	60 mL 本色瓶
粪便 RNA 纯化溶液 B	901109b	15 mL	15 mL 棕色瓶
粪便 RNA 纯化溶液 C	901109c	50 mL	60 mL 本色瓶
离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋
通用洗柱液	220143	50 mL	60 mL 本色瓶
RNA 洗脱液	971207	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	901109sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，溶液 B 长期保存需要放 4℃，有效期一年。

自备试剂

氯仿。

使用方法

1. 称取 0.5-1 g 粪便放入到含液氮的研钵中，迅速将冻成固体的粪便研磨成粉末后。
2. 将粉末转移到 5-15 mL 的塑料离心管中（不能使用玻璃离心管），加入 1 mL 65℃预热的粪便 RNA 纯化溶液 A，立即剧烈振荡 20 秒，充分混匀。
3. 将匀浆物转移至干净的 1.5 mL 塑料离心管中。
4. 在离心管中加入 0.3 mL 的粪便 RNA 纯化溶液 B（溶液 B 用前需要摇匀，呈浑浊状）和 0.2 mL 自备氯仿，在振荡器上振荡 30 秒混匀，此时溶液呈均匀的乳浊状。振荡器振荡时必须使管底溶液震荡起来。
5. 室温 13000×g 离心 3 分钟，两相间将有约 5-10 毫米厚的细胞破碎物。
6. 将上清液(约 0.6 mL)转移到另一干净的 1.5 mL 塑料离心管中，下层有机相和中间层含有 DNA、蛋白质和其他杂质，避免触及或吸取。最好留下 100 μL 上清液不取。
7. 加入等体积的粪便 RNA 纯化溶液 C，充分颠倒混匀。如果有沉淀产生，千万不要去掉沉淀，一定要把所有的混合物上柱。

	8. 将一半的溶液（如果有沉淀，则先混匀）转移到离心吸附柱中，13000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。 9. 将剩下的一半溶液（如果有沉淀，则先混匀）转移到同一离心吸附柱中， 13000×g 室温离心半分钟，弃穿透液。 10. 加 0.7 mL 通用洗柱液，室温离心半分钟，弃穿透液。再加 0.3 mL 通用洗柱液，室温离心半分钟，弃穿透液。 11. 室温离心半分钟。此步十分重要，否则残留的乙醇会影响 RNA 的使用。 12. 将离心吸附柱转移到 RNase-free 收集管中，加入 50-100 μL RNA 洗脱液，室温放置 1-2 分钟。 13. 13000×g 室温离心半分钟，离心管中溶液即为 RNA 样品，可以立即使用或存放于-80℃待用。 14. RNA 完整性的电泳检测：由于粪便 RNA 含有肠道上皮细胞和肠道细菌的 RNA，它们的分子量大小不一，所以电泳时不会形成清晰的条带。 15. RNA 产量产率测定：通过 OD260 的光吸收可以得出 RNA 浓度（1 OD260 的 RNA=40 μg/mL），进而计算出 RNA 的产量（浓度×体积)和产率(RNA 产量/粪便的用量)。 16. RNA 纯度测定：无污染的总 RNA 的 OD260/OD280 一般在 1.8-2.1 之间(具体数值与其碱基组成和溶液成分等多种因素有关)，高于此范围则分别表示样品可能有蛋白质污染，但一般不影响 RT-PCR 等反应。
关联产品	土壤 RNA 纯化试剂盒