

YALEPIC[®] 磁珠法粪便/土壤 RNA 提取试剂盒

YALEPIC[®] MagEVO Stool And Soil RNA Extraction Kit

产品货号: YMR91011

产品保存及运输条件:

DNase I 及 10× DN Buffer, 低温运输, -20°C 保存; RSL Buffer, 常温运输, 2-8°C保存; 其他组分 10 ~ 30°C运输保存。

产品概述

YALEPIC[®] MagEVO Stool And Soil RNA Extraction Kit 本试剂盒提供了一种简单、快速、高效的从土壤或者粪便中提取 RNA 的方法。独特的缓冲体系使裂解液中的核酸高效特异地结合在磁珠上, 获得的核酸纯度高, 质量稳定, 不含蛋白、核酸酶和其他杂质, 可适用于各种分子生物学应用。

产品组分

序号	产品组分	YMR91011 (96 T)
①	YQL Buffer	75 ml
②	RSL Buffer	22 ml
③	YBL Buffer	20 ml
④	Wash Buffer GA	76 ml
⑤	Wash Buffer GB	51 ml
⑥	Magbeads BM	2×1 ml
⑦	Nuclease-free ddH ₂ O	12 ml
⑧	DNaseI	4 × 1000 U
⑨	10× DN Buffer	4 ×1 ml
⑩	Lysis Tubes	96 T

适用范围

- 1.适用于不同来源的固态或液态粪便;
- 2.适用于花坛土、花盆土、农田土、山林土、淤泥、红黑土、粉尘等多类土壤环境样本。

自备试剂及仪器

无水乙醇；异丙醇；酚氯仿溶液（苯酚：氯仿：异戊醇=25：24：1）；涡旋混匀仪或组织研磨仪；2/15 ml 磁力架或核酸提取仪；96 深孔板及磁棒套；Nuclease-free 移液器吸头；Nuclease-free 1.5 ml/2.0 ml 离心管；高速离心机；恒温混匀仪。

实验准备

1. 使用本试剂盒前做好防护措施，穿戴实验服、手套、口罩等。
2. 本试剂盒只是用于提取样本中的核酸，样本类型不同、保存条件不同，具体的样本要求，请严格遵守核酸检测试剂盒样本的有关要求规定。
3. 本试剂盒试剂含有胍盐成分，其具有腐蚀性和刺激性，如体表不慎接触到该试剂，立即用大量清水冲洗；若情况严重需就医。
4. 首次使用前向 **Wash Buffer GA** 和 **Wash Buffer GB** 中加入标签指定量的无水乙醇
5. **Magbeads BM** 请勿冻存及高速离心，使用前只需涡旋振荡数秒混匀。
6. **RSL Buffer** 使用后需放于 2-8°C 冰箱保存。

实验流程

● 样本处理：

- 1) 瞬时离心 **Lysis Tube**，收集裂解珠在管底。
- 2) 根据样本类型选择：
固体样本： 在 2 ml **Lysis Tube** 中，加入 0.2 ~ 0.3g 土壤或粪便样本，加入 650 μ l **YQL Buffer** 盖好盖，旋紧管盖后短暂涡旋振荡，充分混匀。
非裂解型粪便保存液保存的固液混合样本： 向 **Lysis Tube** 中加入 200 μ l ~ 600 μ l 固液混合物，13,000 rpm 离心 1 min，弃掉保存液（若离心后固体量过少，可再次富集，但总量 \leq 0.3 g）。加入 620 μ l **YQL Buffer**，旋紧管盖后短暂涡旋振荡，充分混匀。
- 3) 向管中加入 100 μ l 酚氯仿溶液（苯酚：氯仿：异戊醇=25：24：1，自备）。
- 4) 将 **Lysis Tube** 固定在装有 2 ml 适配器的振荡研磨装置中，并根据您的设备使用优化的研磨条件进行处理（推荐在搭配有 1.5 ~ 2ml 水平离心管支架的涡旋振荡仪上以最大速度振荡 10 min，让 **Lysis Tube** 保持水平放置，其他研磨方式可参考文末**样本研磨方案**）
- 5) 将 **Lysis Tube** 在恒温混匀仪上常温 1,200 rpm 振荡 10 min。随后 13,000 rpm 离心 2 min 以沉淀固体颗粒，转移 540 μ l 上清液至新的 2 ml 离心管（自备）。
- 6) 向样本处理后的上清液中加入 180 μ l **RSL Buffer**（使用前后请至于 2 ~ 8°C 保存），涡旋振荡 5 s，13,000 rpm 离心 2 min，获得**样本上清液**。

● 手动操作 (配磁力架)

1. 依次向 2.0 ml 离心管 (自备) 中加入 160 μ l **YBL Buffer**、480 μ l **样本上清液**、320 μ l 异丙醇 (自备)、20 μ l **Magbeads BM**, 涡旋振荡混匀后, 将离心管置于恒温混匀仪上 25°C、1,600 rpm 振荡裂解 10 min。 (注: **Magbeads BM** 加入前需涡旋振荡 20 s 使其充分混匀, 可与异丙醇提前混匀后加入)
2. 将离心管放于磁力架上静置 1~2 min, 待磁珠完全吸附于离心管侧壁后彻底弃去溶液, 过程中保持离心管固定于磁力架上。
3. 取下离心管, 向管中加入 750 μ l **Wash Buffer GA** (使用前检查是否加入无水乙醇), 旋涡振荡 5 s 后, 置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 2 min。之后将离心管放于磁力架上静置 1~2 min, 待磁珠完全吸附后, 缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落, 彻底弃去溶液, 过程中保持离心管固定于磁力架上。
4. 配制 **DNase I 反应液**: 取 22 μ l **Nuclease-free ddH₂O**, 向其中加入 40 μ l **DNase I** (1 U/ μ l) 及 8 μ l **10 \times DN Buffer**, 混匀配制成终体积为 70 μ l 的反应液。 (如有多个样本, 可按样本量配制预混液)
5. 向离心管中加入 70 μ l 配制好的 **DNase I 反应液**, 涡旋混匀 5 s 后, 20~30°C 孵育 10 min。
6. 取下离心管, 向管中加入 750 μ l **Wash Buffer GA** (使用前检查是否加入无水乙醇), 旋涡振荡 5 s 后, 置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 2 min。之后将离心管放于磁力架上静置 1~2 min, 待磁珠完全吸附后, 缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落, 彻底弃去溶液, 过程中保持离心管固定于磁力架上。
7. 取下离心管, 向管中加入 750 μ l **Wash Buffer GB** (使用前检查是否加入无水乙醇), 旋涡振荡 5 s 后, 置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 2 min。之后将离心管放于磁力架上静置 1~2 min, 待磁珠完全吸附后, 缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落, 彻底弃去溶液, 过程中保持离心管固定于磁力架上。重复该步骤一次。
8. 保持离心管固定于磁力架上静置 5~10 min, 使乙醇充分挥发。 (注: 乙醇残留会影响后续的酶促反应, 应将残余的乙醇彻底去除)
9. 向离心管从磁力架上取下, 向离心管中加入 80 μ l **Nuclease-free ddH₂O**, 涡旋振荡混匀后将离心管放于 56°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 5~10 min。 (或将离心管放于 56°C 水浴锅中孵育 10 min, 期间每隔 3 min 涡旋振荡 10 s)
10. 将离心管放置于磁力架上静置 3 min, 待 Magbeads 完全吸附后, 用移液器将洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管 (自备) 中, -20°C 保存。

● 全自动核酸纯化仪

(根据选用仪器型号进行试剂分装及程序设定, 以下流程以 YALEPIC® Pure 32 通道全自动核酸提取仪为例进行步骤说明)

1) 样本处理好后, 按下表向 96 深孔板中加入试剂:

列数	试剂	体积
第 1、7 列	YBL Buffer	160 μ l
	样本上清液	480 μ l
	异丙醇 (自备)	320 μ l
第 2、8 列	Wash Buffer GA (使用前检查是否加入无水乙醇)	750 μ l
第 3、9 列	DNase I 反应液	70 μ l
第 4、10 列	Wash Buffer GB (使用前检查是否加入无水乙醇)	750 μ l
	Magbeads BM	20 μ l
第 5、11 列	Wash Buffer GB (使用前检查是否加入无水乙醇)	750 μ l
第 6、12 列	Nuclease-free ddH ₂ O	80 μ l

- 2) 将加好样本的深孔板放入核酸提取仪中, 装上磁棒套, 确认磁棒套安装到位后, 即可启动程序 **BBR91011 Stool and Soil RNA-1**。
- 3) 程序运行结束后, 取出深孔板, 向第 3、9 列相应孔中加入 750 μ l **Wash Buffer GA**。
- 4) 将加好样本的深孔板放回核酸提取仪中, 确认磁棒套安装到位后, 即可启动程序 **BBR91011 Stool and Soil RNA-2**。
- 5) 程序结束后, 取出深孔板, 将第 6、12 列中的洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管 (自备) 中, 如不立即进行下游实验, 可置于 $-85 \sim -65^{\circ}\text{C}$ 保存。

研磨样本方案 (可选)

1. 在涡旋振荡仪上以最大速度手动涡旋振荡 10 min。
2. 在搭配 2 ml 水平离心管支架的涡旋振荡仪上以最大速度振荡 10 min (使 Lysis Tubes M 保持水平放置), 若样本数量超过 12 个, 延长 10 min。
3. 使用 Qiagen 的 TissueLyser II 时, 以 25 Hz 研磨 8 ~ 10 min。
4. 使用 Qiagen 的 PowerLyzer 24 Homogenizer 时, 以 2,000 rpm 的速度均质化 30 s, 暂停 30 s, 然后以 2,000 rpm 的速度再次均质化 30 s。
7. 使用 MP Biomedicals 的 FastPrep-24 时, 推荐速度为 6.0, 时间为 40 s。

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断