

## YALEPIC® 磁珠法粪便/土壤 RNA 提取试剂盒 (预装 C 型)

### YALEPIC® MagEVO Stool And Soil RNA Extraction Kit (Prepackaged C)

**产品货号:** YMR91011-C

#### 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 (Prepackaged C) 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-C (96 T) |
|----|----------------------------------|-------------------|
| ①  | YQL Buffer                       | 75 ml             |
| ②  | RSL Buffer                       | 22 ml             |
| ③  | Wash Buffer GA                   | 38 ml             |
| ④  | Nuclease-free ddH <sub>2</sub> O | 3 ml              |
| ⑤  | DNaseI                           | 4 × 1000 U        |
| ⑥  | 10× DN Buffer                    | 4 × 1 ml          |
| ⑦  | Lysis Tubes                      | 96 T              |
| ⑧  | 16 Auto Plate                    | 6 × 16            |
| ⑨  | 8 Magnetic Rod Sleeve            | 6 × 2             |

#### 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；核酸提取仪；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** 中加入标签指定量的无水乙醇。
5. **RSL Buffer** 使用后需放于 2-8°C 冰箱保存。

## 实验流程

### 1. 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  $\mu$ 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  $\mu$ l ~ 600  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ l **RSL Buffer**（使用前请至于 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**。

2. 将预装板 **16 Auto Plate** 从试剂盒中取出，放入水平离心机中  $300 \times g$  离心 10 s，小心去除热封膜，期间避免深孔板震动，防止液体溅出。（注：若无水平离心机，可将预装板颠倒混匀数次使磁珠重悬，轻甩孔板，使试剂及磁珠均集中到孔板底部）
3. 向 **16 Auto Plate** 的第 1、7 列相应的孔中加入 480  $\mu\text{l}$  样本处理步骤 6) 获得的**样本上清液**和 320  $\mu\text{l}$  **异丙醇（自备）**。
4. 配制 **DNase I 反应液**：取 22  $\mu\text{l}$  **Nuclease-free ddH<sub>2</sub>O**，向其中加入 40  $\mu\text{l}$  **DNase I** (1 U/ $\mu\text{l}$ ) 及 8  $\mu\text{l}$  **10 $\times$  DN Buffer**，混匀配制成终体积为 70  $\mu\text{l}$  的反应液。（如有多个样本，可按样本量配制预混液）
5. 向 **16 Auto Plate** 的第 3、9 列相应的孔中加入 70  $\mu\text{l}$  **DNase I 反应液**
6. 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 **YMR91011 Stool and Soil RNA-1**。
7. 程序运行结束后，取出深孔板，向第 3、9 列相应孔中加入 750  $\mu\text{l}$  **Wash Buffer GA**（使用前检查是否加入无水乙醇）。
8. 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 **YMR91011 Stool and Soil RNA-2**。
9. 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。
6. 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