

环境样品 DNA RNA 共提试剂盒

货号/规格: N1231/50 次

产品简介

环境样品 DNA RNA 共提试剂盒运用了先进的珠磨法和硅胶柱纯化技术,能够迅速且安全地从各类样本中提取 DNA 和 RNA。这些样本包括土壤、粪便、环境和水体样本。整个提取过程仅需 50 分钟,操作简便。该产品适用于从不超过 500 毫克的土壤样本、不超过 200 毫克的粪便样本、水体滤膜、底泥或发酵液残渣中高效提取 DNA 和 RNA。提取的 DNA 适用于 PCR、Southern Blot 等实验,满足不同实验需求。提取的 RNA 可以直接用于 RT-PCR、Northern Blot、Poly A 纯化、核酸保护和体外翻译等多种实验。

产品组分

组分	N1231
Buffer STL	40 ml
Buffer SL	15 ml
Buffer PCI	7 ml
Buffer GXP	50 ml
Buffer GWP	30 ml
Buffer RW1	30 ml
Buffer RW2	50 ml
Nuclease-free Water	15 ml
RNA Mini Column	50 个
DNA Mini Column	50 个
Collection Tube	100 个
Beads Tube	50 个

保存条件

室温(15~25℃)保存,有效期 18 个月。

准备试剂/工作

1. 无水乙醇(96-100%)
2. 在 Buffer RW2 中,加入 4 倍体积无水乙醇,于室温保存。

操作步骤

1. 在 2ml Bead Tubes 中,加入~0.5g 土壤、0.1~0.2g 粪便、0.3~0.5g 环境类样品、0.3ml 发酵悬浊液、0.3ml 微生物悬浊液等样品。

2. 加入 600µl Buffer STL 和 100µl Buffer PCI 至样品中,盖紧盖子。

干燥的环境类样品使用前,可以用筛网尽可能清除异物,如树叶、石头或小树枝。对于非常干燥的材料,如果样品材料吸收过多的裂解缓冲液,控制样品用量并适量增加 Buffer STL 的用量。对于非常潮湿的材料,在加入裂解缓冲液之前,可以离心后再去除多余的液体。控制样品用量以确定离心管有足够的空间进行珠磨裂解细胞壁。通常起始材料的减少也有助于提高裂解效率和提高 RNA 的纯度。

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。

3. 转移涡旋仪上最高速度涡旋混匀 10 分钟或珠磨仪上高速珠磨 30-60 秒。

涡旋仪:推荐使用带 2ml 离心管夹具的涡旋仪。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。然而,根据样品的不同,使用涡旋仪时,珠磨裂解时间增加到 15min 可能是有利的,可以根据目标菌群特性和下游应用来调整。

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。

4. 室温下,12,000 x g 离心 5 分钟。

5. 转移上清液(~550µl)至新的离心管中,加 200µl Buffer SL,涡旋混匀 5-秒。12,000 x g 离心 5 分钟。

6. 转移上清液至新的离心管中,加入 700µl 结合液 GXP,颠倒 6-8 次。

吸附 DNA:

7. 把 DNA Mini Column 装在 2ml 收集管中,把一半体积的混合液转移至柱子中。10,000 × g 离心 1 分钟,把滤液转移至 5ml 离心管中。

8. 把 DNA 柱子装回收集管中,转移剩余的混合液至柱子,10,000 x g 离心 1 分钟。把滤液再转移至 5ml 离心管中,合并两次的滤液,按第 16 步进行 RNA 提取。

9. 把 DNA 柱子装回收集管中,加入 500µl Buffer GWP 至柱子中,10,000 x g 离心 1 分钟。

10. 倒弃滤液,把柱子装回收集管,加入 500µl Buffer RW2 至柱子。12,000 × g 离心 1 分钟。

11. 倒弃滤液,把柱子装回收集管,加入 500µl Buffer RW2 至柱子。12,000 × g 离心 1 分钟。

- 12.倒弃流出液，把柱子装回收集管。12,000 x g 离心 2 分钟。
- 13.将 DNA 柱子装在 1.5ml 离心管中。加入 30~50 μ l 预热至 65° C *Nuclease-free Water* 至柱子的膜中央，室温静置 5 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。
- 14.再加入 30~50 μ l 预热至 65° C *Nuclease-free Water* 至柱子的膜中央。室温静置 5 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。
- 15.弃去 DNA 纯化柱，把 DNA 保存于 2~8° C 或 -20° C。

过柱纯化 RNA:

- 16.取第 7-8 步获得的滤液，加入 0.5 倍体积的无水乙醇，颠倒混匀 6-8 次。
- 17.把 RNA Mini Column 装在 2ml 收集管中。转移 $\leq$ 700 μ l 混合液至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
- 18.倒弃滤液，把柱子装回收集管中。转移剩余的混合液至柱子。12,000 x g 离心 1 分钟。重复这一步直至全部混合液都转移至柱子并离心。
- 19.倒弃滤液，把柱子装回收集管，加入 500 μ l *Buffer RW1* 至柱子。12,000 × g 离心 1 分钟。
- 20.倒弃滤液，把柱子装回收集管，加入 500 μ l *Buffer RW2* 至柱子。12,000 × g 离心 1 分钟。
- 21.倒弃滤液，把柱子装回收集管，加入 500 μ l *Buffer RW2* 至柱子。12,000 × g 离心 1 分钟。
- 22.倒弃流出液，把柱子装回收集管。12,000 x g 离心 2 分钟。
- 23.将柱子转移至 1.5ml 离心管，加入 30-100 μ l *Nuclease-free Water* 至柱子膜中央，室温静置 2 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。
- 24.弃去 RNA 纯化柱，把 RNA 保存于 -80°C。

本品仅供科学研究使用。