

# R6828 Stool RNA Kit

## 简易中文步骤

√实验前请按说明书正确配制 RWB Wash Buffer

➤ 使用【无水乙醇】对 RWB Wash Buffer 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
R6828-00	8mL
R6828-01	48mL
R6828-02	48mL (每瓶)

### 粪便 RNA 提取步骤:

- 取 100-200mg 的粪便样品和 200mg glass beads 放于 2mL 离心管中，离心管放置于冰上；  
Note: 如果样品呈液体状，取 200 $\mu$ l 到 2mL 离心管，可以剪一下移液管尖的那端，容易吸取样品。如果样品是冰冻状态，用刮刀刮下来至 2mL 离心管中，在加入 Buffer RPL 之前无须解冻。
- 加入 500 $\mu$ l Buffer RPL，涡旋震荡混匀；
- 加入 500 $\mu$ l 水饱和酚溶液，涡旋混匀，65 $^{\circ}$ C 孵育 10min；
- 选做：如果为了得到样品中细菌 RNA，最高速涡旋 3min；
- 加入 500 $\mu$ l 氯仿，涡旋混匀 30s；
- 将样品放置冰上，冰浴 5min，最大速度 ( $\geq 13,000$ xg) 离心 5min；
- 小心转移 500 $\mu$ l 上清液至新的 2mL 离心管 (自备)，确保不要吸到沉淀物；
- 加入 500 $\mu$ l Buffer RB 和 500 $\mu$ l 无水乙醇，涡旋混匀；
- 将 HiBind<sup>®</sup> RNA 结合柱套在 2mL 收集管 (已提供) 中，转移步骤 8 得到的 750 $\mu$ l 混合液到 HiBind<sup>®</sup> RNA 结合柱中， $> 10,000$ xg 离心 30s，弃滤液；
- 将 HiBind<sup>®</sup> RNA 结合柱套在同一个 2mL 收集管中，重复步骤 9，将步骤 8 得到剩余的混合液全部结合到 HiBind<sup>®</sup> RNA 结合柱上；
- 将 HiBind<sup>®</sup> RNA 结合柱套在新的 2mL 收集管中，加入 500 $\mu$ l RWC Wash Buffer 至 HiBind<sup>®</sup> RNA 结合柱中， $> 10,000$ xg 离心 30s，弃滤液；
- 将 HiBind<sup>®</sup> RNA 结合柱套在同一个 2mL 收集管中，加入 500 $\mu$ l RWB Wash Buffer 至 HiBind<sup>®</sup> RNA 结合柱中， $> 10,000$ xg 离心 30s，弃滤液；  
Note: RWB Wash Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。
- 重复步骤 12；
- 将 HiBind<sup>®</sup> RNA 结合柱套在同一个 2mL 收集管中， $\geq 12,000$ xg 离心 2min 以干燥 RNA 结合柱的基质；
- 将 HiBind<sup>®</sup> RNA 结合柱套在干净的 1.5mL 离心管中，加入 30-50 $\mu$ l DEPC 水到

HiBind® RNA 结合柱中，室温放置 2min，10,000xg 离心 1min 洗脱 RNA。

### 粪便病毒 RNA 提取实验流程

1. 取 0.5-1mL 或者 0.5-1g 的样品，加入 5mL 的 0.89M 的 NaCl 中；
2. 4,000xg 离心 20min；
3. 使用 0.22µm 过滤器过滤上清液；
4. 转移 150µl 的滤液至新的 1.5mL 离心管中，加入 500µl Buffer RB/10µl β-巯基乙醇，涡旋混匀；

Note: 每 1mL Buffer RB 在使用前需添加 20µl β-巯基乙醇；如果样品的量大于 150µl，则按比例增加 Buffer RB 的量。

粪便，血浆，血清，尿液和其他体液通常含有的细胞和病毒数量极低，在这种情况下，我们建议通过 Ultra filtrate 将样品体积浓缩至 200µl。

5. 室温放置 5-10min；
6. 加入 350µl 无水乙醇，最高速涡旋混匀 30s；
7. 将 HiBind® RNA 结合柱套在 2mL 收集管（已提供）中，转移 700µl 混合液至 HiBind® RNA 结合柱中，10,000xg 离心 30s，弃滤液；
8. 将 HiBind® RNA 结合柱套在同一个 2mL 收集管中，重复步骤 7，将剩余的混合液全部结合到 HiBind® RNA 结合柱上；
9. 将 HiBind® RNA 结合柱套在同一个 2mL 收集管中，加入 500µl RWB Wash Buffer 至 HiBind® RNA 结合柱中，> 10,000xg 离心 30s，弃滤液；

Note: RWB Wash Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。

10. 重复步骤 9；
11. 将 HiBind® RNA 结合柱套在同一个 2mL 收集管中，< 14,000xg 离心 2min 以干燥 RNA 结合柱的基质；
12. 将 HiBind® RNA 结合柱套在干净的 1.5mL 离心管中，加入 30-50µl DEPC water 到 HiBind® RNA 结合柱中，室温放置 3-5min，10,000xg 离心 1min 洗脱 RNA。  
-70°C 保存。

中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准