天净沙系列

CAT#:220516

常温运输和保存

天净沙

细菌 RNA 纯化试剂盒（过柱法）

Bacterial RNA Purification Kit (Column Methods)

使用手册 V1.01

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

本产品用于快速从各种常见的细菌中提取总 RNA。本产品具有下列特点:

1. 操作简单快速，一般只需 30-40 分钟完成。
2. 既可用于革氏阴性细菌，也可用于革氏阳性细菌。
3. 所 RNA 纯度高，OD260/OD280 一般在 2.0 左右。
4. 一般不含基因 DNA 和蛋白质污染。
5. 性价比高于进口同类产品。
6. 得到的 RNA 可用于后续 RT-PCR、Northern Blot、芯片分析、体外翻译、polyA 筛选和 RNase 保护分析等试验。
7. 本产品可以进行 50 次微量细菌 RNA 提取。
8. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用大扁盒包装

名称	编号	规格	包装
细菌 RNA 纯化溶液 A	220516a	25 mL	30 mL 棕玻瓶
细菌 RNA 纯化溶液 B	220516b	25 mL	30 mL 本色瓶
氯仿替代品	240760	10 mL	15 mL 棕玻瓶
溶菌酶干粉	220516c	30 mg	1.5 mL 本色管
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	220516sc	1 份	1 份

运输及保存

常温运输，收到货后，细菌 RNA 纯化溶液 A 长期保存需要放 4℃，溶菌酶干粉长期保存需要放-20℃，有效期一年。

自备试剂

离心管。

使用方法

注意: 试验所用的实验室环境、耗材等均需要 RNase-free。操作步骤是针对在 1.5 mL 塑料离心管中进行的微量提取。

1. 新鲜配制溶菌酶溶液：根据样品数量用自备的 TE 缓冲液和本试剂盒提供的溶菌酶干粉配制合适体积的、浓度为 4 mg/mL 的溶菌酶溶液，放冰上待用。一次革氏阳性细菌 RNA 小量提取需要 100 μL 溶菌酶溶液，一次革氏阴性细菌 RNA 小量提取需要 10 μL 溶菌酶溶液。未用完的溶菌酶溶液不建议保存后重复使用。
2. 在 1.5 mL 塑料离心管中离心收集 0.2-1.5 mL 新鲜细菌(细菌总数不得超过 1E9

个细菌）。注意:由于细菌 RNA 半衰期十分短，只有 2-5 分钟，所以必须使用最新鲜的、处于对数生长期的细菌才能提到高质量的 RNA。细菌必须立即使用，不能静置。

3. 吸尽液体培养基，如果是革氏阳性细菌，则加入 100 μL 第 1 步制备的 4 mg/mL 的溶菌酶溶液，彻底重悬细菌，常温放置 5-10 分钟。如果是革氏阴性细菌，则加入 90 μL TE 缓冲液和 10 μL 第 1 步制备的 4 mg/mL 的溶菌酶溶液，彻底重悬细菌，常温放置 3-5 分钟。
4. 加入 0.3 mL 细菌 RNA 纯化溶液 A，用枪充分吹打细菌沉淀，确保细菌全部裂解，没有块状物。此时裂解物总体积是 0.4 mL。
5. 加入约 0.2 mL 体积的氯仿代替品，振荡器上充分振荡混均 30 秒。
6. 12,000-15,000×g 室温离心 3 分钟。
7. 将上清液（约 0.3 mL）转移到新的离心管中。注意：离心后下层有机相和中间层含有 DNA 和蛋白质，避免触及，否则将产生蛋白质和 DNA 污染。
8. 加入等体积（约 0.3 mL）的细菌 RNA 纯化溶液 B，充分混匀后全部上柱。
9. 12,000-15,000×g 室温离心半分钟，弃收集管中的穿透液。
10. 加 0.7 mL 通用洗柱液到离心吸附柱中，室温离心半分钟，弃收集管中的穿透液。一次洗涤一般足够去除杂质。但如果样品 OD260/OD280 比值不高，可以再用 0.3 mL 通用洗柱液重复此步一次。
11. 室温 12,000-15,000×g 离心半分钟。此步十分重要，否则残留的通用洗柱液会影响 RNA 的使用。
12. 将离心吸附柱转移到一自备的 RNase-free 收集管中，加入 30-100 μL RNA 洗脱液，室温放置两分钟。
13. 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：如果需要做 Northern 杂交，强烈建议用户使用甲醛变性胶进行 RNA 电泳，因为非变性胶不能分离所有的 RNA 分子。
15. RNA 产量产率测定：将 5-10 μL RNA 溶于 TE 缓冲液中(pH 7.5-8.2 之间)检测其在 OD260 的光吸收。通过光吸收可以得出 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/组织用量)。
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	真菌 RNA 纯化试剂盒