天净沙系列

CAT#:240119-6

常温运输和保存

天净沙

细菌 RNA 纯化试剂盒（磁珠法）

Bacterial RNA Purification Kit (MB Method)

使用手册 V1.0

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。
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，OD_{260}/OD_{280}一般在 2.0 左右。
4. 性价比高于进口同类产品。
5. 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。
1. 与市场上大多数基于磁珠法的自动核酸纯化仪兼容。
6. 本产品可以进行 100 次微量细菌 RNA 提取。
2. 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
溶菌酶干粉	CAS:12650-88-3	60 mg	1.5 mL 白色管
细菌 RNA 纯化溶液 A	240119-6a	60 mL	60 mL 棕色玻璃瓶
细菌 RNA 纯化溶液 B	240119-6b	60 mL	60 mL 本色瓶
磁珠结合液	240119-6c	24 mL	30 mL 本色瓶
RNA 专用磁珠	240119-6d	4 mL	5 mL 本色瓶
磁珠洗涤液 1	240119c	70 mL	125 mL 本色瓶
磁珠洗涤液 2	240119d	2×70 mL	125 mL 本色瓶
RNA 洗脱液	971207	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	240119sc	1 份	1 份

运输及保存

常温运输和保存，细菌 RNA 纯化溶液 A、RNA 专用磁珠需放 4℃保存，溶菌酶干粉长期保存需要放-20℃，有效期一年。

自备试剂

自备 TE 缓冲液、1.5 mL 离心管（耗材）。

使用方法

注意：试验所用的实验室环境、耗材等均需要 RNase-free。

一: 制备重悬菌液

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 200 μL 溶菌酶溶液，一次革氏阴性细菌 RNA 小量提取需要 20 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. 12,000×g 室温离心 1 分钟后弃上清，如果是革氏阳性细菌，则加入 200 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 180 μL TE 缓冲液和 20 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。

二、自动化提取体系

4. 试剂分装:

按下表将各种试剂装在 96 孔板对应的孔中。

孔位	试剂名称和体积
第 3/9 列孔	700 μL 通用磁珠洗涤液 1
第 4/10 列孔	700 μL 通用磁珠洗涤液 2
第 5/11 列孔	700 μL 通用磁珠洗涤液 2
第 6/12 列孔	55 μL RNA 洗脱液

5. 样品孔的准备:

按下表把重选菌液、细菌 RNA 纯化溶液 A、细菌 RNA 纯化溶液 B、磁珠结合液、RNA 专用磁珠分装在 96 孔板的低 1/7 列孔和第 2/8 列孔中。

孔位	试剂名称和体积
第 1/7 列孔	1. 重选菌液：100 μL 2. 细菌 RNA 纯化溶液 A：300 μL 3. 细菌 RNA 纯化溶液 B：300 μL 4. 磁珠结合液：120 μL 5. RNA 专用磁珠：20 μL
第 2/8 列孔	6. 重选菌液：100 μL 7. 细菌 RNA 纯化溶液 A：300 μL 8. 细菌 RNA 纯化溶液 B：300 μL 9. 磁珠结合液：120 μL 1. RNA 专用磁珠：20 μL

注意：细菌 DNA 纯化溶液 A 和细菌 DNA 纯化溶液 B 容易产生沉淀，使用前必须放在 65℃水浴使沉淀彻底溶解并充分摇匀后再取用。

6. 打开核酸提取仪。

7. 按下表设置程序。

孔位	名称	等待时间 (min)	混合时间 (min)	吸磁次数	容积 (μL)	混合速度	温度
1	结合 1	0	10	1	840	中	关闭
2	结合 2	0	10	1	840	中	关闭
3	洗涤 1	0	1	1	700	中	关闭
4	洗涤 2	0	1	1	700	中	关闭
5	洗涤 2	0	1	1	700	中	关闭
6	洗脱	4	5	1	55	中	关闭
4	去磁	0	1	0	700	快	关闭

8. 将装好试剂及样本的 96 孔板放到核酸提取仪中，把磁力套插到仪器中，运行程序。

9. 提取结束后，在核酸提取板的第 6 列孔把 DNA 转移至 1.5 mL 离心管中，DNA 样品可以直接用于 PCR，也可放-20℃长期保存。

关联产品 细菌 DNA 纯化试剂盒（磁珠法）