



细菌 RNA 柱式提取试剂盒

产品编号	规格
MRN1210-50	50 次

保存条件及效期：

4℃保存，保质期一年。

产品描述：

本产品用于快速从各种常见的革氏阴性和革氏阳性细菌中提取总 RNA。它具有下列特点:

- 1. 操作更加简单快速，省去了最费时的离心步骤。
- 2. 所得 RNA 纯度更高，OD260/OD280 一般在 2.0 左右。
- 3. 一般不含基因 DNA 污染。
- 4. 适用于各种革氏阴性和革氏阳性细菌。
- 5. 性价比高于进口同类产品。

规格及成分:

成份	50 次包装
溶液 A	30ml
溶液 B	20ml
离心吸附柱	50 套
通用洗柱液	50 ml
RNA 洗脱液	10 ml
说明书	1 份

使用方法:

下面的操作步骤是针对在 1.5 ml 塑料离心管中进行的微量提取的。

1. 新鲜配制裂解液。将溶液 A 和溶液 B 按 1: 1 的比例混合。注意：溶液 A 和溶液 B 混合后必须立即使用，不要放置，否则会产生沉淀。一次处理 1.5ml 左右的细菌需要 0.6ml 新鲜配制的裂解液(即 0.3ml 溶液 A 和 0.3ml 溶液 B 的混合液)。
2. 在 1.5 ml 塑料离心管中离心收集 0.2-1.5 ml 新鲜细菌。注意：由于细菌 RNA 半衰期十分短，所以，必须使用最新鲜的、处于对数生长期的细菌。
3. 吸尽液体培养基，加入 0.6ml 新配制的裂解液，用枪充分吹打细菌沉淀，确保细菌全部裂解，没有块状物。
4. 将裂解物转移至一个干净的 1.5 ml 塑料离心管中，然后加入 0.2 倍体积的自备氯仿(1 ml 裂解物需 0.2 ml 氯仿)，振荡器上充分振荡混匀 30 秒。
5. 12000-15000 g 室温离心 3-5 分钟。
6. 将上清液(约 0.6-0.8 ml)转移到离心吸附柱中。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。为保险起见，可以留下 100 μ l 上清液不取。同时吸取上清时最好缓慢进行，否则容易吸出交界面的不可见的丝状 DNA。
7. 12000-15000g 室温离心半分钟，弃收集管中的穿透液。
8. 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 OD₂₆₀/280 比值不高，可以再用 0.3 ml 通用洗柱液重复此步一次。
9. 室温 12000-15000 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。
10. 将离心吸附柱转移到一自备的 RNase-free 收集管中，加入 50-100 μ l RNA 洗脱液。
11. 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。
12. 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。
13. RNA 产量产率测定：将 5-10 μ l RNA 溶于 TE 缓冲液中(pH7.5-8.2 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 μ g/ml)，进而计算出 RNA 的产量(浓度 X 体积)和产率(RNA 产量/组织用量)。
14. 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。

注意事项：

1. 为避免上样孔中出现红色荧光物，建议最好使用甲醛变性胶电泳。如果需要使用非变性胶，也必须在上样前使 RNA 变性；
2. 如果怀疑有 DNA 污染，可以用 DNase 处理 RNA 样品，然后再电泳；
3. 使用 RNA 专用的上样液，RNA 专用的上样液不宜放置时间过长。