

细菌 RNA 快速提取试剂盒 使用说明书

产品编号: RE771-50T

储存条件: 4°C保存, 保质期 1 年。

产品内容:

产品名称	包装组成
裂解液	30mL
RNA 洗涤液	60mL
RNA 纯化柱	50 套
RNA 溶解液	10mL
说明书	1 份

产品说明:

Coolaber 细菌 RNA 快速提取试剂盒适用于革兰氏阴性菌 RNA 提取, 可以简单快速地纯化高质量的总 RNA。纯化好的总 RNA 可用于 mRNA 分离, RT-PCR, Northern 杂交等下游分子实验。如提取革兰氏阳性菌 RNA 建议用真菌 RNA 快速提取试剂盒提取。

自备试剂:

氯仿

(一) 菌体裂解:

1. 在 1.5 mL 塑料离心管中离心收集 1-3 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。

2. 吸尽液体培养基, 加入 0.5mL 裂解液, 用枪充分吹打细菌沉淀后室温放置 3 min, 确保细菌全部裂解, 没有块状物。

(二) 样品纯化:

1. 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(0.5mL 裂解

液需 0.1mL 氯仿), 振荡器上充分振荡混匀 30 s。

2. 12,000rpm 室温离心 3 min, 吸取上清到新的离心管中, 建议取 400-450uL 上清。

3. 在上清中加入 200-225uL 的无水乙醇, 颠倒混匀, 加入 RNA 纯化柱中 (如有絮状物或沉淀产生, 一并加入纯化柱中)。12,000rpm 离心 1min, 弃穿透液。

4. 在纯化柱中加入 0.5mL RNA 洗涤液, 室温 12,000rpm 离心 30 s, 弃穿透液。

(三) RNA 收集:

1. 将结合有 RNA 的纯化柱 12,000rpm 离心 1min, 甩干乙醇。

2. 弃收集管, 将柱芯转移到 1.5mL 的 RNase-free 离心管中, 加入 30-50uL RNA 溶解液, 室温放置 1 min, 12,000 rpm 离心 1 min 洗脱 RNA。得到的 RNA 可直接用于后续实验或者 -80°C 存放。

3. 如果要提高 RNA 产量, 加入 30-50uL RNA 溶解液重复洗脱一次, 合并两次穿透液; 如果要提高 RNA 浓度, 使用第一次的洗脱液加回到纯化柱中重复洗脱。

注意: 建议 RNA 用于下游实验之前, 先进行质量检测。经变性琼脂糖凝胶电泳后, 会有清晰的 28S 和 18S 条带, 以及中间弥散的 mRNA 条带, 其中 28S 条带是 18S 条带亮度的 1.5-2 倍。有时还包括跑在最前面的较暗的 5S 条带。A260/A280 比值 1.8~2.0 对应 RNA 纯度 90-100% 之间。