

For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures

Version 2.0

## 细菌总RNA抽提纯化试剂盒（柱式）

### Spin Column Bacteria Total RNA Purification Kit



Cat.No. MER1132

Size : 50 / 100 tests

Technical literature is available at : [www.mesgenbio.com](http://www.mesgenbio.com)E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system : [tech@mesgenbio.com](mailto:tech@mesgenbio.com)

#### 产品简介

本试剂盒采用溶菌酶与裂解液共同作用，迅速裂解细胞，释放出RNA的同时灭活RNase。RNA在高盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列漂洗和离心等步骤进一步将蛋白等杂质去除，最后用DEPC-treated ddH<sub>2</sub>O将RNA从硅基质膜上洗脱。操作简单，全过程可在40分钟之内完成。获得的RNA OD260/OD280一般为2.0左右，可直接用于RT-PCR、Northern Blot、斑点杂交等实验。

#### 产品特点

1. 操作简单快速，整个过程40分钟左右完成。
2. 纯化柱吸附量大，稳定性好，重复性好

#### 产品组分

名称	50 tests	100 tests
Lysis Buffer-A	10 mL	20 mL
Lysis Buffer-B	10 mL	20 mL
Wash Buffer-A	50 mL	100 mL
Wash Buffer-B	12 mL	24 mL

#### 使用方法

1. 取1.0 mL对数生长期的细菌（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），2000g 4°C离心1 min，彻底弃掉培养基，加100 μl溶菌酶，振荡混匀。（G-菌使用的溶菌酶浓度为400 μg/ml，室温酶解3~5 min；G+菌使用的溶菌酶浓度为3 mg/mL，室温酶解5~10 min。）

2. 新鲜配制裂解液。将Lysis Buffer-A和Lysis Buffer-B按1:1的比例混合。注意：Lysis Buffer-A和Lysis Buffer-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1.0 mL左右的细菌需要0.4 mL新鲜配制的裂解液（即0.2 mL Lysis Buffer-A和0.2 mL Lysis Buffer-B的混合液）。加入新配制的裂解液，用枪充分吹打细菌沉淀，确保细菌全部裂解，没有块状物。
3. 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 s。12000~15000g室温离心3~5 min。
4. 将上清液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。为避免污染，可以留下100 μL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。
5. 12000~15000g室温离心30 s，弃收集管中的穿透液。
6. 加0.7 mL Wash Buffer-A到离心吸附柱中，室温离心30 s，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 Wash Buffer-A重复此步一次。
7. 加0.5 mL Wash Buffer-B到离心吸附柱中（使用前请检查是否按比例加入无水乙醇），室温离心30 s，弃收集管中的穿透液。
8. 室温12000~15000g离心30 s。此步十分重要，否则残留的洗柱液会影响RNA的使用。
9. 将离心吸附柱转移到一自备的RNase-free收集管中，加入50-100 μL DEPC-treated ddH<sub>2</sub>O。
10. 室温离心30 s，离心管中溶液即为RNA样品，可以立即使用或存放于-80°C待用。
11. 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。

12. RNA 产量产率测定: 将 5-10 $\mu$ 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( $10\text{OD}260$  的 RNA=40 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ), 进而计算出 RNA 的产量(浓度 X 体积)和产率(RNA 产量/组织用量)。
13. 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。

### **保存条件**

室温, 保质期 12 个月。

**产品仅供科学研究 禁止用于临床诊断、治疗**  
For Research Use Only. Not For Use In Diagnostic Procedures.