



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

细菌RNA提取试剂盒 (DNase I)

储存温度 -20℃。

产品介绍

本试剂盒采用了经过优化的缓冲液系统, 适合从细菌样本中提取总 RNA。使用本试剂盒可以有效提取分子量大于 200nt 的 RNA。

本试剂盒具有高效、快速和方便的特点, 提取过程中也无需苯酚氯仿抽提等步骤。利用该试剂盒提取的 RNA 纯度高, 极少含蛋白质、基因组 DNA 和其他杂质的污染。提取得到的 RNA 可以直接用于 Northern 杂交、斑点杂交、mRNA 纯化、体外翻译、RNA 分解酶的保护分析、RT-PCR、RT-qPCR 和构建 cDNA 文库等各种分子生物学实验。

产品组分

R46191	Component	50T	Storage
R46191A	Buffer URL	20 mL	RT.
R46191B	Buffer RW	38 mL	RT.
R46191C	Buffer RW2	12 mL	RT.
R46191D	RNase-Free ddH ₂ O	15 mL	RT.
R46191E	Buffer TE	10 mL	RT.
R46191F	过滤柱 GS (含 2 mL 收集管)	50 EA	RT.
R46191G	吸附柱 RA (含 2 mL 收集管)	50 EA	RT.
R46191H	RNase-Free 离心管 (1.5 mL)	50 EA	RT.
R46191I	1 mL 注射器	1 EA	RT.
R46191J	DNase I	1 EA	2-8℃.
R46191K	DNase I Buffer	4 mL	2-8℃.



R46191L

RNase-Free ddH₂O

1 mL

2-8°C.

注意事项

1. 操作前在 Buffer URL 中加入 β -巯基乙醇至终浓度 1%，配好的 URL 可在 4°C 放置 1 个月。Buffer URL 在储存时可能会形成沉淀，如果有沉淀出现，请于 37°C 加热溶解，然后待恢复至室温后使用。
2. 尽可能使用新鲜收集的样品，RNA 产量与起始样品中 RNA 的完整性有关，按照说明书标准流程降解为小片段的 RNA 不能被有效回收。
3. DNase I 储存液配制：用 1mL 注射器将 550 μ L RNase-Free ddH₂O 注入装有 DNase I 干粉的瓶中，轻柔混匀至溶解，分装后 -30~-15°C 储存(可保存 9 个月)，每次根据用量需求取出。配制的 DNase I 工作液置于 2-8°C 储存(可保存 42 天)，避免反复冻融。

操作步骤

使用前请先在 12 mL 的 Buffer RW2 中加入 48 mL 无水乙醇。

1. 4°C 12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 2 min 收集菌体(收集菌体的最大量不超过 1×10^9)，小心去除所有培养基上清，后续的离心步骤均在室温进行。
2. 用 100 μ L 含有溶菌酶的 Buffer TE 彻底重悬菌体，37°C 孵育。溶菌酶使用量及孵育时间见下表。

TE 缓冲液配方：50mM Tris, pH 8.0； 10mM Na₂-EDTA, pH 8.0。121°C 灭菌处理 20 min。

例：

G-细菌：1 μ L 溶菌酶储存液 (50mg/mL) + 99 μ L Buffer TE，重悬菌体，溶菌酶终浓度即为 500 μ g/mL；

G+细菌：6 μ L 溶菌酶储存液 (50mg/mL) + 94 μ L Buffer TE，重悬菌体，溶菌酶终浓度即为 3mg/mL。

3. 加入 350 μ L Buffer URL(使用前请先加入 β -巯基乙醇)，涡旋振荡混匀 15sec(此步骤可能出现沉淀)。将溶液与沉淀全部加入到过滤柱 GS(过滤柱放在收集管中)，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 1min。



4. 将滤液转移至一个新的 1.5mL RNase-Free 离心管中(不要吸取到底部沉淀), 加入250 μ L 无水乙醇, 混匀(此时可能会出现沉淀), 将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱RA(吸附柱放在收集管中), 12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 30sec, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。

5. 向吸附柱中加入 350 μ L Buffer RW, 12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 30sec, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。

6. DNase I 工作液的配制: 取 10 μ L DNase I 储存液放入新的 RNase-Free 离心管中, 加入 70 μ L DNase I Buffer, 轻柔混匀。

7. 向吸附柱中央加入 80 μ L 的 DNase I 工作液, 室温放置 15min。

8. 向吸附柱中加入 350 μ L Buffer RW, 12,000rpm (13,400 $\times$ g)离心 30sec, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。

9. 向吸附柱中加入 500 μ L Buffer RW2(使用前请先加入无水乙醇) 12,000rpm (13,400 $\times$ g)离心 30sec, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。

10. 重复步骤 9。

11. 12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 2min。

12. 将吸附柱转移至一个新的 1.5mL RNase-Free 离心管中, 打开吸附柱管盖, 室温放置1min, 以彻底晾干吸附柱中的无水乙醇。向吸附膜的中间部位悬空滴加 30-100 μ L RNase-Free ddH₂O, 12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 30sec。得到的 RNA 可直接用于下游实验, 或于-80 $^{\circ}$ C以下保存。

注意: RNase-Free ddH₂O 体积不应小于 30 μ L, 体积过小影响回收率。若要提高 RNA 的产量, 可将第一次洗脱液重新加入吸附柱进行洗脱, 或将 RNase-Free ddH₂O 置于 65 $^{\circ}$ C预热。