



## Bacterial RNA Kit

### 细菌 RNA 提取试剂盒

#### 产品简介

Bacterial RNA Kit可从培养的动物细胞或者细菌中快速提取总RNA，可同时处理大量不同样品。30-40 min内即可完成反应，提取的总RNA纯度较高，基本没有DNA和蛋白质污染，可用于RT-PCR、Real Time RT-PCR、芯片分析、Northern Blot、Dot Blot、PolyA 筛选、体外翻译、RNase 保护分析和分子克隆等多种下游实验。

#### 试剂盒组成

产品编号	R1401	R1405	R1406	R1407
次数	5	50	100	200
RNA Columns	5	50	100	200
Buffer BRL	5ml	55ml	110ml	110ml*5
Wash Buffer I	3ml	33ml	55ml	110ml
Wash Buffer II	2ml	13ml	26ml	26ml*2
Lysozyme	120µl	1.05ml	1.05ml*2	2.1ml*2
DEPC-Water	1ml	13ml	20ml	30ml
说明书	1	1	1	1

#### 储存和稳定性

TRNsol 4℃放置，其他试剂室温保存。试剂盒从购买之日起1年内有效。**预防RNase 污染，应注意以下几方面：**

- 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致RNase污染。
- 使用无RNase 的塑料制品和枪头避免交叉污染。
- RNA 在Buffer PR中时不会被RNase 降解。但提取后继续处理过程中应使用不含RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在1500C烘烤4 小时，塑料器皿可在0.5 M NaOH 中浸泡10分钟，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除RNase。
- 配制溶液应使用RNase-free ddH<sub>2</sub>O。（将水加入到干净的玻璃瓶中，加入DEPC 至终浓度0.1%(v/v)，混匀后放置过夜，高压灭菌）。

#### 浓缩的Wash Buffer II需用无水乙醇按如下稀释：

- R1401 加8 ml；R1405加入52 ml ；R1406与R1407每瓶加入104 ml 无水乙醇

#### Buffer BRL加巯基乙醇

- Buffer BRL加入beta-巯基乙醇，使巯基乙醇终浓度为1%，如1ml Buffer RBL加10µl 巯基乙醇。此裂解液最好现用现配。配好的RL 4℃可放置一个月。

#### 操作步骤

1. 4℃12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min收集菌体（收集菌体的最大量不超过 $1 \times 10^9$ ），仔细去除所有培养基上清，以后的所有离心步骤均在室温（20-25℃）进行。

注：如果培养基上清去除不完全，将对第二步中的细胞壁消化过程产生抑制。

2. 用100 µl TE缓冲液（TE需自备）彻底重悬菌体，加入15µl Lysozyme，混匀。37℃孵育5- 10min。

3. 加入350µl Buffer BRL（在使用前请加入β-巯基乙醇），涡旋振荡混匀，若出现不溶性沉淀，12000 rpm(~13,400×g)离心2 min，将上清转移至另一离心管中。

4. 加入250µl 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，12,000 rpm(~13,400×g)离心30-60 sec，弃掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

5. 向吸附柱中加入350 µl RNA Wash Buffer，12,000 rpm(~13,400×g)离心30-60 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

6. DNA 膜上消化（可选步骤）：加入取10 µl DNase I 储存液放入新的RNase-Free离心管中，加入70 µl Buffer RDD，轻柔混匀后加到纯化柱膜中央处，室温放置15min。

7. 向吸附柱中加入350 µl Wash Buffer I，12,000 rpm(~13,400×g)离心30-60 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

8. 向吸附柱中加入600µl Wash Buffer II（使用前请先检查是否已加入乙醇），12,000 rpm(~13,400×g)离心30-60 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

9. 重复步骤8。

10. 12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min，倒掉废液。

注意：此步骤目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液的残留，可能会影响后续的RT等实验。

11. 将吸附柱CR3转入一个新的RNase-Free离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加30-100 µl DEPC-water，室温放置2 min，12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min，得到RNA溶液。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于30 µl，体积过小影响回收效率。RNA溶液请于-70℃保存。

## 可能出现的问题与对策

问 题	原 因	建 议
少或无洗脱 RNA	RNA 依然保留在柱子上	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 再次洗脱</li> <li>• 洗脱前把 DEPC 水预热至 70°C</li> <li>• 离心前把柱子水浴 5min</li> </ul>
	柱子过载了	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 减少起始原料的量</li> </ul>
柱子堵塞 RNA 被降解	没有完全裂解	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 加如 TRNsol 后混和均匀</li> <li>• 延长离心时间</li> <li>• 减少起始原料的量</li> </ul>
	来源有问题	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 不要冷冻血液</li> <li>• 样品保存时间过长, 请用新鲜样品</li> <li>• 依照方案来做, 并且操作要迅速</li> </ul>
	RNA 酶污染	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 确保在操作中不要导入 RNA 酶</li> <li>• 检查各缓冲液是否有 RNA 污染</li> </ul>
下游应用中出现了问题	在洗脱的过程中有盐遗留下来	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 确保 Wash Buffer II 已经用适量的无水乙醇稀释过</li> <li>• 乙醇稀释后的 Wash Buffer II 必须在室温下保存</li> <li>• 再用 Wash Buffer II 洗涤</li> </ul>
	有 PCR 抑制剂	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 减少起始原料的量</li> <li>• 转移上清时不要超过上清的 80%</li> </ul>
有 DNA 杂质		<ul style="list-style-type: none"> <li>• 用无 RNA 酶的 DNA 酶降解之, 并在 75°C 下变性 5min</li> </ul>
低吸光度比值	用酸性缓冲液或水来洗脱 RNA	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 用 TE 缓冲液来代替 DEPC 水进行洗脱或稀释。</li> </ul>

## 可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G3422	DAB 染色液	100ml
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2
G3424	RIPA 裂解液	100ml
P0018	ECL 发光液	100ml
G3418	TMB Solution For Blotting	100ml
G4308	TMB solution For Elisa	100ml
G3005	30%丙烯酰胺 (29:1)	500ml
G0528	4%多聚甲醛	500ml
G3422	BCA 蛋白浓度测定试剂盒	500T
G3155	Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	1000T
G4256	10X 丽春红染色液	10ml

## 广州捷倍斯生物科技有限公司

地址: 广州市国际生物岛螺旋四路一号研发B区403

电话: 020-82160415 Email: genebase@vip.163.com WEB: www.gbcbio.cn