

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:80103-50  
常温运输和保存

**TIANDZ**

# 柱式细菌 RNA<sub>OUT</sub>

## Column Bacterial RNA<sub>OUT</sub>

使用手册 V1.3

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: [www.tiandz.com](http://www.tiandz.com); 电话: 400-6765278; 电邮: [order@tiandz.com](mailto:order@tiandz.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>本产品是天净沙细菌 RNAout (CAT#:51102)的柱式升级产品, 用于快速从各种常见的中提取总 RNA。跟细菌 RNAout 相比 它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 操作更加简单快速, 省去了最费时的离心步骤。一般只需 30-40 分钟完成。</li> <li>2. 既可用于革氏阴性细菌, 也可用于革氏阳性细菌。</li> <li>3. 所得 RNA 纯度更高, OD260/OD280 一般在 2.0 左右。</li> <li>4. 一般不含基因 DNA 和蛋白质污染。</li> <li>5. 性价比高于进口同类产品, 适用于各种革氏阴性细菌。</li> <li>6. 可用于后续 RT-PCR、Northern Blot、芯片分析、体外翻译、polyA 筛选和 RNase 保护分析等试验。</li> </ol>																										
<p><b>规格及成分</b></p>	<table border="1" data-bbox="564 685 1283 1189"> <thead> <tr> <th>成 份</th> <th>编 号</th> <th>大纸盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>柱式细菌 RNAout 溶液 A</td> <td>80103a</td> <td>25 mL</td> </tr> <tr> <td>柱式细菌 RNAout 溶液 B</td> <td>80103b</td> <td>25 mL</td> </tr> <tr> <td>溶菌酶干粉</td> <td>80103c</td> <td>30 mg</td> </tr> <tr> <td>离心吸附柱</td> <td>60911</td> <td>50 套</td> </tr> <tr> <td>通用洗柱液</td> <td>60408</td> <td>50 mL</td> </tr> <tr> <td>RNA 洗脱液</td> <td>71207</td> <td>10 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>80104sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>			成 份	编 号	大纸盒包装	柱式细菌 RNAout 溶液 A	80103a	25 mL	柱式细菌 RNAout 溶液 B	80103b	25 mL	溶菌酶干粉	80103c	30 mg	离心吸附柱	60911	50 套	通用洗柱液	60408	50 mL	RNA 洗脱液	71207	10 mL	使用手册	80104sc	1 份
成 份	编 号	大纸盒包装																									
柱式细菌 RNAout 溶液 A	80103a	25 mL																									
柱式细菌 RNAout 溶液 B	80103b	25 mL																									
溶菌酶干粉	80103c	30 mg																									
离心吸附柱	60911	50 套																									
通用洗柱液	60408	50 mL																									
RNA 洗脱液	71207	10 mL																									
使用手册	80104sc	1 份																									
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>常温运输, 收到货后, 溶液 A 长期保存需要放 4℃, 溶菌酶干粉长期保存需要放-20℃, 有效期一年。</p>																										
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>氯仿。</p>																										
<p><b>使用方法</b></p>	<p>注意: 试验所用的实验室环境、耗材等均需要 RNase-free。操作步骤是针对在 1.5 mL 塑料离心管中进行的微量提取。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 新鲜配制溶菌酶溶液: 根据样品数量用自备的 TE 缓冲液和本试剂盒提供的溶菌酶干粉配制合适体积的、浓度为 4mg/mL 的溶菌酶溶液, 放冰上待用。一次革氏阳性细菌 RNA 小量提取需要 100uL 溶菌酶溶液, 一次革氏阴性细菌 RNA 小量提取需要 10uL 溶菌酶溶液。未用完的溶菌酶溶液不建议保存后重复使用。</li> <li>2. 在 1.5 mL 塑料离心管中离心收集 0.2-1.5 mL 新鲜细菌 (细菌总数不得超过 <math>1 \times 10^9</math> 个细菌)。注意: 由于细菌 RNA 半衰期十分短, 只有 2-5 分钟, 所以必须使用最新鲜的、处于对数生长期的细菌才能提到高质量的 RNA。细菌必须立即使用, 不能静置。</li> </ol>																										

3. 吸尽液体培养基，如果是革氏阳性细菌，则加入 100uL 第 1 步制备的 4mg/mL 的溶菌酶溶液，彻底重悬细菌，常温放置 5-10 分钟。如果是革氏阴性细菌，则加入 90uL TE 缓冲液和 10uL 第 1 步制备的 4mg/mL 的溶菌酶溶液，彻底重悬细菌，常温放置 3-5 分钟。
4. 加入 0.3mL 溶液 A，用枪充分吹打细菌沉淀，确保细菌全部裂解，没有块状物。此时裂解物总体积是 0.4mL。
5. 加入约 0.2 倍体积的自备氯仿(10.4mL 裂解物需 0.1 mL 氯仿)，振荡器上充分振荡混均 30 秒。
6. 12000-15000 g 室温离心 3 分钟。
7. 将上清液（约 0.3mL）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。
8. 加入等体积（约 0.3mL）的溶液 B，充分混匀后全部上柱。
9. 12000-15000 g 室温离心半分钟，弃收集管中的穿透液。
10. 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 OD<sub>260</sub>/<sub>280</sub> 比值不高，可以再用 0.3 mL 通用洗柱液重复此步一次。
11. 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。
12. 将离心吸附柱转移到一自备的 RNase-free 收集管中，加入 30-100 uL RNA 洗脱液，室温放置两分钟。
13. 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。
14. 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 (BioTechniques, 28: 414, 2000) 。
15. RNA 产量产率测定:将 5-10 μL RNA 溶于 TE 缓冲液中(pH7.5-8.2 之间)检测其在 OD<sub>260</sub> 的光吸收。通过光吸收可以得出 RNA 浓度 (1 OD<sub>260</sub> 的 RNA=40 μg/mL)，进而计算出 RNA 的产量 (浓度 X 体

	<p>积)和产率(RNA 产量/组织用量)。</p> <p>16. 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。</p>
<p><b>关联产品</b></p>	<p>非冻型细菌 RNA 保存液 (CAT#:80601)</p>