



U-Fast超快细菌RNA提取试剂盒

版本: 2023-10-27

U-Fast Bacterial RNA Extraction kit

Catalog # ZP431

| 试剂盒组成 | ZP431-1 (20次) | ZP431-2 (50次) |
|-------------------------------|---------------|---------------|
| 裂解液GN | 15 mL | 30 mL |
| 漂洗液RW | 15 mL | 15 mL |
| RNase-free ddH ₂ O | 10 mL | 10 mL |
| RNase-free 吸附柱 | 20个 | 50个 |
| RNase-free收集管 (2 mL) | 20个 | 50个 |
| 说明书 | 1份 | 1份 |

储存条件: 常温保存 (保质期1年)

产品特点:

- 本试剂盒是经过改进开发的新一代无毒绿色RNA提取产品。
- 可实现10分钟快速提取, 是目前已知速度最快、步骤最少的总RNA提取试剂盒。
- 适用于细菌、农杆菌、酵母、真菌等RNA的提取。
- 与Trizol相比, 提取RNA质量高, 不同批次提取差异小。
- 提取的总RNA 适用于cDNA合成、RT-PCR、Real-time RT-PCR、芯片分析等实验。

注意事项:

- 第一次使用前请先在漂洗液RW瓶中加入无水乙醇, 加入量请参见瓶上标签。
- 操作过程中勤换手套。严防操作环境、使用的容器、耗材和试剂的RNase污染。
- 针对于容易破壁的细菌 (如大肠杆菌) 无需溶菌酶处理, 特殊菌类请配合使用溶菌酶 (ZOMANBIO ZS101)。
- 个别情况下获得的RNA有DNA污染, 可能原因是细胞量过大, 或样本加入量远大于100 μ L, 或者因为某些样本的特殊性质。
- 如果有 DNA 污染而又必须去除, 则可以用 RNase-free的 DNase I处理样品。
- 离心操作步骤室温或4 $^{\circ}$ C 离心均可。
- 步骤7尽量保证在膜中央加入洗脱液, 低于30 μ L 将不能保证吸附膜被充分浸润。

操作流程:

1. 取新鲜培养的0.5 - 1 mL 菌液, 12,000 rpm (\sim 13,400 \times g) 离心2 min, 收集菌体 (菌体的最大量不超过 1×10^9), 仔细去除所有培养基上清。

注意: a 大肠杆菌, 农杆菌等革兰氏阴性菌可不用处理细胞壁, 直接操作。 如果提取少量约 5 μ g RNA, 可以直接取100 μ L 菌液 (无需去除LB培养液)。

b 难提取的细菌、酵母、丝状真菌等建议吸干水分, 液氮研磨破壁处理。

c 较难破壁的革兰氏阳性菌, 建议使用含有0.1-0.3mg溶菌酶的100 μ L TE (10mM Tris-HCl 8.0, 1mM EDTA) 悬浮液重悬菌体, 进行破壁处理。



2. 选做 液氮研磨：（细胞壁复杂样品，或者特殊培养处理后提取效果差的样品。）
 - 1) 手动研磨：向菌体中加入液氮，用研磨棒仔细研磨成粉末状，期间加几次液氮保持低温。
接第3步。
 - 2) 研磨仪研磨：向装有菌体的离心管内加入3颗小氧化锆珠/小钢珠，离心管盖好，放入研磨金属架，一起放入液氮预冷30S，装入研磨仪，65HZ振荡30S（研磨仪为北京赫得，京-N9524）。接第3步。
3. 在处理好的样本中，迅速加入500 μL 裂解液GN，涡旋混匀30 s，室温静置5min，然后缓慢加入200 μL （0.4倍无水乙醇），颠倒混匀。
4. 将得到的溶液和可能的沉淀一起转入吸附柱中（吸附柱装入收集管中），离心1-2min（离心时长取决于过滤效率，与细菌的数量相关）。倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
5. 向吸附柱中加入500 μL 的漂洗液RW（使用前请先检查是否加入乙醇），12,000 rpm（ $\sim 13,400 \times g$ ）离心15 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
6. 重复步骤4再洗一次。
7. 空离12,000 rpm（ $\sim 13,400 \times g$ ）离心2 min，去掉残留乙醇；丢弃收集管，将吸附柱放入一个新的RNase-free离心管中，打开吸附柱室温放置2 min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
8. 向吸附膜的中间部位悬空加入30 - 50 μL RNase-free ddH₂O，室温放置2 min，12,000 rpm（ $\sim 13,400 \times g$ ）离心1 min，获得RNA溶液。