

## MolPure<sup>®</sup> Bacterial RNA Kit 细菌 RNA 提取试剂盒

### 产品信息

产品名称	产品货号	规格
MolPure <sup>®</sup> Bacterial RNA Kit 细菌 RNA 提取试剂盒	19301ES50	50 T

### 产品描述

MolPure<sup>®</sup> Bacterial RNA Kit 适用于革兰氏阳性菌、革兰氏阴性菌等细菌的 RNA 提取。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，配合本公司独特的缓冲液配方可最大限度将细胞代谢物、蛋白等杂质去除。提取的 RNA 纯度高，质量稳定可靠，可适用于各种下游应用实验，如 RT-PCR、RT-qPCR、体外转录、分子克隆等。

### 试剂盒组分

类别	编号	组分名称	19301ES50 (50 T)
Part I	19301-A	溶菌酶 (Lysozyme)	20 mg
Part II	19301-B	DNA 清除柱 B4 (DNA-Removing Column B4)	50 个
	19301-C	RNA 吸附柱 B4 (MolPure <sup>®</sup> RNA Column B4)	50 个
	19301-D	2 mL 收集管 (2 mL Collection Tube B4)	100 个
	19301-E	裂解液 LB (LB Buffer B4)	25 mL
	19301-F	去蛋白液 PL (PL Buffer B4)	40 mL
	19301-G	漂洗液 W* (Wash Buffer B4*)	13 mL
	19301-H	缓冲液 TE (pH 8.0)	6 mL
	19301-I	RNase-free H <sub>2</sub> O	5 mL

### 运输与保存方法

常温运输，常温保存，有效期 12 个月。

### 注意事项

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
2. 注意观察各溶液是否有析出或浑浊（尤其冬季等室温为低温环境时），可 37°C 温浴复溶至溶液澄清，避免影响使用效果。
3. 裂解液 LB 和去蛋白液 PL 含有刺激性物质，为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

### 实验前准备

1. 自备设备和试剂：台式离心机、振荡仪、水浴锅或金属浴，1.5 mL RNase-free 离心管，无水乙醇等。
2. 所有的离心步骤均在室温完成，使用可以达到 12,000 rpm 转速的传统台式离心机。
3. 首次使用前，在漂洗液 W\* 瓶中加入 4 倍体积的无水乙醇，充分混匀后使用，并做好标记。如果发现漂洗液 W\* 由于运输或保管不当造成容量严重不准，请用量筒定容后再加入 4 倍体积的无水乙醇。每次使用后将瓶盖盖紧，以保持漂洗液 W\* 中的乙醇含量。
4. 首次使用前，称取 1 mg 溶菌酶（19301-A，产品货号：10402ES）溶于 1 mL 缓冲液 TE (pH 8.0)，充分混匀，即为 1 mg/mL 溶菌酶工作液。工作液分装 -20°C 保存，数周内稳定。

## 操作方法

### 一、样本预处理:

1. 取 0.5-2 mL 细菌培养液（最多不超过  $10^9$  个细胞），12,000 rpm 离心 2 min，弃上清。  
注：菌体不宜过量，过量会严重降低产量。起始处理量与细菌密度、种类等相关。  
注：上清残留量不宜超过 20  $\mu$ L。
2. **针对革兰氏阴性菌**：加入 100  $\mu$ L 1 mg/mL 溶菌酶工作液。涡旋振荡 10 sec，室温孵育 2 min。重复振荡孵育 3 次。  
**针对革兰氏阳性菌**：加入 100  $\mu$ L 1 mg/mL 溶菌酶工作液。涡旋振荡 10 sec，室温孵育 2 min。重复振荡孵育 6 次。  
注：细菌数多于  $5 \times 10^8$  细胞时，溶菌酶工作液加入量为 200  $\mu$ L。  
注：革兰氏阳性菌细胞壁处理难度与细菌类型有关，建议通过对溶菌酶工作浓度和孵育条件等进行摸索、优化。
3. 短暂离心收集细胞，弃上清。
4. 涡旋振荡重悬分散细胞。加入 500  $\mu$ L **裂解液 LB**，反复吹打混匀，并剧烈涡旋振荡至无明显不溶物。  
注：若处理后，仍有不溶物，可 12,000 rpm 离心 2 min，取上清液进行下一步。

### 二、RNA 提取:

1. 将 DNA 清除柱 B4 套入 2 mL 收集管中，备用。
2. 加入上述裂解物至 DNA 清除柱 B4 中，12,000 rpm 离心 1 min，保留滤过液。  
注：离心后，若滤膜仍有液体残留，可延长离心时间至 5 min。
3. 加入 0.5 倍体积无水乙醇，**立即**吹打混匀。  
注：可能会形成絮状沉淀，属于正常现象。
4. 将上述混合物加入 RNA 吸附柱 B4 中，12,000 rpm 离心 1 min，弃掉废液。  
注：混合液每次最大加入体积 700  $\mu$ L，可分多次离心。
5. 加入 500  $\mu$ L **去蛋白液 PL**，12,000 rpm 离心 30 sec，弃掉废液。
6. 将 RNA 吸附柱 B4 放回收集管中，加入 500  $\mu$ L **漂洗液 W\***，12,000 rpm 离心 30 sec，弃废液。  
注：确保漂洗液 W\* 已添加无水乙醇。
7. 重复一遍步骤 6。
8. 将 RNA 吸附柱 B4 放回收集管，空柱 12,000 rpm 室温离心 2 min，以除去残留的漂洗液 W\*。
9. 将 RNA 吸附柱 B4 放入新的 1.5 mL RNase-free 离心管中，在 RNA 吸附柱 B4 中央加入 30-50  $\mu$ L RNase-free H<sub>2</sub>O，室温放置 1 min。然后 12,000 rpm 离心 1 min。收集滤液，即为 RNA 溶液。  
注：可通过以下方式提高回收产量：①65°C 预热 RNase-free H<sub>2</sub>O；②将 RNA 滤液再次上柱，室温放置 2 min 后，洗脱。
10. 样品可置于 -20°C 短期保存，-80°C 长期保存。