

细菌 RNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] Bacterial RNA Kit

货号	R6950-00	R6950-01	R6950-02
反应次数	5 次	50 次	200 次
HiBind [®] RNA Mini Columns	5 个	50 个	200 个
2 mL Collection Tubes	15 个	150 个	600 个
BRK Lysis Buffer	2 mL	20 mL	80 mL
RNA Wash Buffer I	5 mL	50 mL	180 mL
RNA Wash Buffer II	5 mL	12 mL	50 mL
Nuclease-free Water	5 mL	10 mL	30 mL
Lysozyme	8 mg	80 mg	4 x 80 mg
Glass Powder	200 mg	2 g	8 g
User Manual	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. Lysozyme 长期保存需要放置 -20°C；
3. 当贮存温度较低时，有些组分易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
4. 本试剂盒仅供科学研究使用。

★ 实验前准备

1. 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 RNA Wash Buffer II 进行稀释，稀释后室温保存；

货号	无水乙醇 加入量
R6950-00	20 mL
R6950-01	48 mL
R6950-02	200 mL

2. 按照下表加入 TE Buffer 配制 Lysozyme Solution (15 mg/mL)。溶解后放置-20°C保存。

货号	TE Buffer 加入量
R6950-00	530 μ L
R6950-01	5.3 mL
R6950-02	5.3 mL (每管)

3. (可选) 每毫升 BRK Lysis Buffer 需加入 20 μ L 2-巯基乙醇，该混合液可室温贮存 4 周。

★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型低温离心机
- ✓ 离心速度可达 5,000xg 的吊篮式离心机
- ✓ 温度可达 30°C、70°C的水浴装置
- ✓ 涡旋仪
- ✓ 无酶吸头及 1.5mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、TE Buffer、2-巯基乙醇
- ✓ (可选) 真空抽滤装置、DNase I 消化套装 (货号 E1091)

★ 提取步骤 —— 离心方案

1. 使用 LB 培养基培养细菌至对数期。
2. 室温 4,000 xg 离心收集 ≤3mL 的培养菌液 ($< 5 \times 10^8$ 个细菌), 弃除培养基。
3. 加 100 μ L Lysozyme solution, 高速涡旋 30s。

注意:

1) Lysozyme 在使用前需要按照第 2 页“实验前准备”使用 TE Buffer 进行溶解。

2) 所需酶的用量以及消化时间可能需要根据使用的菌株进行修改。细胞壁的完全消化对于裂解至关重要, 对于某些细菌使用其他酶可能更有效。

4. 30°C 振荡孵育 10 min, 如果没有振荡培养箱或者水浴锅, 在样品孵育期间, 每隔 2min 摇匀一次。
5. 加入 350 μ L BRK Lysis Buffer 和 25 mg Glass Powder。高速涡旋 5 min。

注意: BRK Lysis Buffer 在使用前需要按照第 2 页“实验前准备”加入 2-巯基乙醇。

6. 室温 13,000xg 离心 5min, 转移 400 μ L 上清液到新的离心管中。
7. 70°C 孵育 5min, 室温 13,000xg 离心 2min, 转移上清液到新的离心管中。
8. 加入 280 μ L 无水乙醇, 高速涡旋 15s 混匀。
9. 将 HiBind® RNA Mini Columns 套入收集管中, 转移第 8 步得到的混合液到结合柱中 (包含所形成的沉淀), 室温 10,000xg 离心 30s, 弃滤液;

可选 DNase I 消化步骤 (需另购 DNase I Set 货号 E1091)

如需使用 DNase I 对 DNA 污染进行消解, 请参考第 5 页“DNase I 消化步骤”。

如无需进行 DNA 消解, 请接着按第 10 步操作;

10. 将 HiBind® RNA Mini Columns 套入收集管中, 加入 400 μ L RNA Wash Buffer I 至结合柱中, 10,000xg 离心 30s, 弃滤液及收集管;
11. 将 HiBind® RNA Mini Columns 套回收集管中, 加入 500 μ L RNA Wash Buffer II (已加无水乙醇正确稀释) 至结合柱中, 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;

注意: RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。

12. 重复步骤 11 进行第二次 RNA Wash Buffer II 洗涤;
13. 将 HiBind® RNA Mini Columns 套回收集管中, 10,000xg 离心空甩 2min。

14. 将 HiBind® RNA Mini Columns 套入新的 1.5mL 离心管中，加入 30-100 μ L Nuclease-free Water 至结合柱中，室温放置 2 min，10,000xg 离心 1min 洗脱 RNA，产物放置-70°C 保存。

注意：以下操作可能帮助提高 RNA 产量：

- 使用前将 Nuclease-free Water 70°C 预热及室温静置 5min；
- 增加洗脱液的体积；
- 用新的 Nuclease-free Water 进行二次洗脱（可增加产量，但会导致浓度降低）
- 将第一次洗脱出的 Nuclease-free Water 重新加回到柱子中进行二次洗脱（可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积）

★ 提取步骤 —— 抽滤方案

1. 按照第 3 页“离心方案”的步骤 1-8 准备好裂解结合液。
2. 按照说明书将 HiBind® RNA Mini Columns 与真空抽滤装置连接。转移裂解结合液到 HiBind® RNA Mini Columns 中，打开真空泵，使所有混合液通过柱子，关闭真空泵。

注意：如果溶液无法完全通过柱子，需将柱子转移套入 2 mL 收集管中，按照离心方案步骤 9 进行。

可选 DNase I 消化步骤（需另购 DNase I Set 货号 E1091）

如需使用 DNase I 对 DNA 污染进行消解，请参考第 5 页“DNase I 消化步骤”。如无需进行 DNA 消解，请接着按第 3 步操作；

3. 加入 400 μ L RNA Wash Buffer I 至结合柱中，打开真空泵，使所有混合液通过柱子，关闭真空泵；
4. 加入 500 μ L RNA Wash Buffer II（已加无水乙醇正确稀释）至结合柱中，打开真空泵，使所有混合液通过柱子，关闭真空泵；

注意：RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。

5. 重复步骤 4；
6. 将 HiBind® RNA Mini Columns 从真空抽滤装置中取下，套回 2mL 收集管中，13,000xg 离心空甩 2min。

7. 将 HiBind® RNA Mini Columns 套入新的 1.5mL 离心管中，加入 50-100 μL Nuclease-free Water 至结合柱中，室温放置 2 min，10,000xg 离心 1min 洗脱 RNA，产物放置 -70°C 保存。

注意：以下操作可能帮助提高 RNA 产量：

- 使用前将 Nuclease-free Water 70°C 预热；
- 室温静置 5min；
- 增加洗脱液的体积；
- 用新的 Nuclease-free Water 进行二次洗脱（可增加产量，但会导致浓度降低）
- 将第一次洗脱出的 Nuclease-free Water 重新加回到柱子中进行二次洗脱（可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积）

★ DNase I 消化步骤（可选步骤）

用户自备试剂：DNase I Digestion Set (货号 E1091)

按照上述《离心方案》完成 1-9 步或《抽滤方案》完成 1-2 步后，请按以下步骤操作：

1. 每一个 HiBind® RNA Mini Columns，按照按下表配置 DNase I 溶液：

溶液名称	每份配量
Digestion Buffer	73.5 μL
RNase-Free DNase I	1.5 μL
总量	75 μL

重要提示：

- ✓ DNase I 非常敏感且易发生物理变性，切勿大力涡旋 DNase I 溶液。建议轻柔颠倒离心管进行混匀；
- ✓ DNase I 混合液需现配现用；
- ✓ 请使用套装内配套的 Digestion Buffer 消化液，其他消化液与膜上消化操作不配套，可能会降低 RNA 产量及纯度；
- ✓ 全部操作均在室温下进行，请谨慎且尽量快速地操作。

2. 将 HiBind[®] RNA Mini Columns 套入 2ml 收集管中，往 HiBind[®] RNA Mini Columns 加入 200 μ L RNA Wash Buffer I，10,000 \times g 室温离心 1min，弃掉滤液；
3. 将配置好的 75 μ L 的 DNase I 溶液，转移至 HiBind[®] RNA Mini Columns 膜的正中央，切勿打到结合柱壁；
4. 室温静置 15min；
5. 加入 200 μ L RNA Wash Buffer I 至 HiBind[®] RNA Mini Columns 中，室温静置 5min，10,000 \times g 离心 1min，弃滤液；
6. 将 HiBind[®] RNA Mini Columns 套回收集管中，加入 500 μ L RNA Wash Buffer II（已加无水乙醇正确稀释）至结合柱中，10,000 \times g 离心 1min，弃滤液；
注意：RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
7. 重复步骤 6；
8. 将 HiBind[®] RNA Mini Columns 套回收集管中，10,000 \times g 离心空甩 2min。
9. 将 HiBind[®] RNA Mini Columns 套入新的 1.5mL 离心管中，加入 50-100 μ L Nuclease-free Water 至结合柱中，室温放置 2 min，10,000 \times g 离心 1min 洗脱 RNA，产物放置 -70 $^{\circ}$ C 保存。
注意：以下操作可能帮助提高 RNA 产量：
 - 使用前将 Nuclease-free Water 70 $^{\circ}$ C 预热；
 - 室温静置 5min；
 - 增加洗脱液的体积；
 - 用新的 Nuclease-free Water 进行二次洗脱（可增加产量，但会导致浓度降低）
 - 将第一次洗脱出的 Nuclease-free Water 重新加回到柱子中进行二次洗脱（可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积）

★ 提取步骤示意图

离心操作流程



真空抽滤操作流程



★ 产品信息卡



更多详情, 请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



常见问题合集及操作注意事项

请扫描左方二维码获取



中国总代理: 广州飞扬生物工程有限公司

技术支持: 020-32051125

企业 QQ: 800848200 (人工客服在线)

中文网站: omegabiotek.com.cn

如需查询代理商名录, 请关注“飞扬生物”微信号获取

售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源, 请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒, 我司恕不提供任何质量保证及售后服务。