

乳液微生物 RNA 提取试剂盒（柱式法）使用说明书

【预期用途】

乳液微生物 RNA 提取试剂盒（柱式法）用于从乳液中分离纯化细胞、病毒、革兰氏阴性细菌、革兰氏阳性细菌或真菌等生物体的总 RNA。

【检验原理】

在高速振荡情况下，玻璃珠破坏微生物细胞壁。细胞裂解液裂解细胞释放核酸，并与核酸保护剂一起保护 RNA 不被核酸酶水解。细胞中和液清除 DNA，RNA 被吸附柱内的硅胶膜高效吸附，洗涤吸附柱，去除蛋白、盐等杂质。在洗脱液作用下，硅胶膜释放吸附的 RNA 从而获得高质量的 RNA。

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-BMR01N-M	研磨管	50 支	100 支	200 支
	细胞裂解液 C	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶	80mL×1 瓶
	核酸保护剂	1mL×1 支	2mL×1 支	4mL×1 瓶
	细胞中和液 R	7.5mL×1 瓶	15mL×1 瓶	30mL×1 瓶
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	吸附柱（含收集管）	50 支	100 支	200 支
	洗脱液 A	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

核酸保护剂：常温（10-30℃）运输，2-8℃保存；

其他成分：常温（10-30℃）运输保存。有效期 1 年。

【注意事项】使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 使用前检查细胞裂解液是否出现混浊，如有混浊，可于 37°C 以上孵育至澄清。
2. 使用前检查中和缓冲液 R 是否出现混浊或结晶，如有混浊或结晶，可于 37°C 以上孵育至澄清。
3. 提前配制 RAW1，RAW1 中乙醇含量低于 60% 会影响提取效果。
4. 提前配制 80% 乙醇水溶液，乙醇水溶液中乙醇含量低于 80% 会影响提取效果。
5. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
6. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品，但操作时最好做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
7. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

新鲜的乳液。

【适用范围】

$\leq 5.0 \times 10^6$ 个脱落细胞； $\leq 2.0 \times 10^9$ 个革兰氏阴性细菌； $\leq 5.0 \times 10^7$ 个真菌。

【自备器械和试剂】

小型高速离心机（最大离心力 $\geq 12,000 \times g$ ）、高速匀浆器（研钵、液氮）、1.5mL 离心管、无水乙醇和异丙醇等。

- **RAW1 配制：**RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：**1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。
- 每次使用前检查**细胞裂解液 C**和**中和缓冲液 R**是否沉淀或结晶，如有沉淀或结晶，请于 37°C 以上孵育至液体澄清（孵育需要 5-10 分钟）。

【样本处理】

1. 取 15mL-50mL 母乳加入到相应体积的 15mL 或 50mL 离心管中，8,000rpm 离心 10 分钟。吸弃脂肪层和乳清，保留沉淀。

2. 在沉淀中加入 500μL 生理盐水，充分悬浮沉淀。将悬浮液转移至 1.5mL 离心管中，12,000 ×g 离心 1 分钟。吸弃上清，保留沉淀。

3. 在沉淀中加入 20μL 核酸保护剂和 400μL 细胞裂解液 C，悬浮沉淀，转移悬浮的沉淀至研磨管中。

4. 将研磨管放入振荡仪或研磨仪，振荡仪的程序为：室温（25℃）3,000rpm 振荡 10 分钟；研磨仪（以上海净信研磨仪为例）的程序为：运行 90 秒，中断 5 秒，运行 5 次，频率 70。

- 延长研磨管在振荡仪中的振荡时间可以提高 RNA 的得率。
- 研磨仪的程序需要根据微生物的种类和研磨仪的品牌不同而微调，如增加减少运行次数和频率等。

5. 取出研磨管，瞬时离心。

【操作步骤】

1. 在上述含已处理样本的研磨管中加入 150μL 细胞中和液 R，吹打混匀。

2. 闭盖 12,000×g 离心 5 分钟。

3. 吸取 500μL 上清至 1.5mL 离心管中，加入 250μL 异丙醇，吹打混匀。将吸附柱放入收集管中，转移所有液体至吸附柱。

- 吸取上清时，尽量避免吸出沉淀。
- 用 250μL 无水乙醇替代 250μL 异丙醇也可以获得满意的提取效果。

4. 闭盖 12,000×g 离心 1 分钟。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

5. 开盖，在吸附柱中加入 600μL RAW1，闭盖 12,000×g 离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

►加入 RAW1 时，避免 RAW1 接触吸附柱的管口。

6. 开盖，在吸附柱中加入 600μL 80%乙醇水溶液，闭盖 12,000×g 离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

7. 开盖，在吸附柱中加入 600μL 80%乙醇水溶液，闭盖 12,000×g 离心 20 秒。取出吸附柱，丢弃收集管。将吸附柱放入新的 1.5mL 离心管中。

8. 闭盖 12,000×g 离心 3 分钟。取出吸附柱，丢弃离心管。

9. 将吸附柱转入新的 1.5mL 离心管中，加入 50μL 洗脱液 A 至吸附柱中心。闭盖室温静置 1 分钟，12,000×g 离心 1 分钟，收集洗脱液，备用。

►洗脱液 A 的使用量可以根据需要调整，但用量不得低于 30μL。

►洗脱液的使用量太少会影响提取效果。

【说明书编制日期】 2024 年 01 月 25 日

【基本信息】

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司

公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室

网 址：www.wuxi-medtech.com

联系电话：173 1562 0564（微信同号）； 138 6175 7779（微信同号）