

Takara MiniBEST Universal RNA Extraction Kit (Code 9767)

- 세균 (Bacteria)의 RNA 추출 방법 -

1) Gram(-) Bacteria의 RNA 추출 ($1.0 \sim 5.0 \times 10^9$ Gram(-) Bacteria cells)

- (1) Bacteria를 12,000 rpm에서 2분간 원심 분리 후, 상층액을 완전히 제거한다.
- (2) 상층액을 제거한 튜브에 600 μl Buffer RL을 첨가하여 Lysis한다 (침전물 또는 덩어리가 보이지 않도록 완전히 lysis한다.).
- (3) 제품 매뉴얼 7페이지 VII. Protocols. For cultured mammalian cells의 2번부터 매뉴얼에 따라 실험을 진행한다.

2) Gram(+) Bacteria의 RNA 추출 ($0.5 \sim 2.0 \times 10^9$ Gram(+) Bacteria cells)

- (1) Bacteria를 12,000 rpm에서 2분간 원심 분리 후, 상층액을 완전히 제거한다.
- (2) 500 μl PBS Buffer를 첨가하여 Bacteria를 resuspension시킨다.
- (3) 50 μl 의 **Lysozyme (20 mg/mL, 별도구매)**을 첨가하고, pipet으로 완전히 섞는다.
- (4) 37°C에서 60분간 Incubation한다. (20분마다 튜브를 뒤집어 섞는다.)
- (5) 600 μl Buffer RL을 첨가한다 (침전물 또는 덩어리가 보이지 않도록 완전히 lysis한다.).
- (6) 제품 매뉴얼 7페이지 VII. Protocols. For cultured mammalian cells의 2번부터 매뉴얼에 따라 실험을 진행한다.

3) 액체질소를 이용한 Bacteria RNA 추출 ($1.0 \sim 5.0 \times 10^9$ Gram(-) / $0.5 \sim 2.0 \times 10^9$ Gram(+) Bacteria)

- (1) 액체질소를 사용하여 Bacteria를 얼린 후 막자 사발을 이용해 곱게 간다.
- (2) (1)에서 준비한 Bacteria를 1.5 ml tube에 옮긴다.
- (3) 600 μl Buffer RL을 첨가한다 (침전물 또는 덩어리가 보이지 않도록 완전히 lysis한다.).
- (4) 제품 매뉴얼 8페이지 VII. Protocols. For mammalian tissues의 2번부터 매뉴얼에 따라 실험을 진행한다.