



动物组织/细胞总RNA快速提取试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100020

产品介绍

本产品基于硅胶柱纯化技术，可以用于动物组织和细胞总 RNA 的高质量提取。提取过程不需要用到有毒的酚、氯仿等有机溶剂，操作简单，最快 8 min 即可完成实验操作。本试剂盒适用范围广、兼容多种样本类型；提取所得 RNA 产物纯度高、杂质蛋白和 gDNA 残留少，产物可以直接用于 RT-PCR、RT-qPCR、芯片分析、分子克隆等多种分子生物下游实验。

产品目录

产品名称	规格
动物组织/细胞总 RNA 快速提取试剂盒	50 rxns
	100 rxns

产品组成

组分	50 rxns	100 rxns
裂解液 RAL	35 mL	70 mL
蛋白酶 K	1mL	1mL×2
去蛋白液 RW1	20 mL	40 mL
漂洗液 RW2	25 mL	50 mL
RNase-Free ddH ₂ O	10 mL	20 mL
过滤柱 C6	50 个	100 个
吸附柱 N8	50 个	100 个
收集管	100 个	100 个×2

产品用途

用于组织、细胞的 RNA 提取。

产品特点

- 1. 操作便捷，简单快速。
- 2. 样品适用范围广。
- 3. 提取的 RNA 片段完整、纯度高、质量好。

注意事项

- 1. 使用前请按标签所示向去蛋白液 RW1 和漂洗液 RW2 中加入适量无水乙醇；
- 2. 使用前请检查裂解液 RAL、去蛋白液 RW1 中是否有沉淀析出，如果有，需要在 37℃水浴待沉淀溶解后可继续使用；
- 3. 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；
- 4. 使用本试剂盒时，请穿戴实验服、一次性乳胶手套、一次性口罩、使用 RNase-Free 耗材，避免 RNase 污染；
- 5. 所有实验操作如未特意说明请在室温 15 ~ 25℃下操作。



操作步骤

使用前请按标签所示向去蛋白液 RW1 和漂洗液 RW2 中加入适量无水乙醇。

1. 材料准备

- 自备：无水乙醇、1.5 mL RNase-Free 离心管、RNase-Free 枪头等。
- 样本准备：动物组织：10 ~ 20 mg/每次；培养细胞： $<5 \times 10^6$ /每次。

2. 样本处理

a. 动物组织：取不超过 20 mg 新鲜组织，加入 500 μ L 裂解液 RAL 进行充分匀浆；或液氮研磨后加入 500 μ L 裂解液 RAL，吹吸或振荡至无团块；

注：富含 DNA/RNA 的脏器组织量建议不超过 10 mg，如肝、肾、脾等；肌肉类的组织由于 RNA 含量少，应增加到 50 mg；使用玻璃研磨器匀浆请在冰上操作，避免高温导致 RNA 降解；

b. 悬浮细胞（细胞量不超过 5×10^6 ）：取适量培养液，离心后收集细胞。加入 500 μ L 裂解液 RAL 至样品中，用移液枪吸打混匀至无明显细胞团即可；

c. 贴壁细胞（细胞量不超过 5×10^6 ）：去除培养基加入 500 μ L 裂解液 RAL，用移液枪吹吸数次让细胞脱落；或用胰酶消化，离心后收集细胞，加入 500 μ L 裂解液 RAL 至样品中，用移液枪吹吸混匀至无明显团块即可。

3. （可选）加入 20 μ L 蛋白酶 K 颠倒混匀后室温孵育 5min。

注：提取肌肉组织必须加入蛋白酶 K。不同组织类型存在差异，建议加入蛋白酶 K 以获得最佳效果。提取细胞样本时可省略此步骤以节省操作时间。

4. RNA 提取（在无 RNase 环境下操作）

a. 将过滤柱 C6 装在收集管中。转移裂解后样本至过滤柱 C6 中。12000 rpm（ $\sim 13400 \times g$ ）离心 1 min，收集滤液；

注：如裂解液 RAL 中有明显未研磨碎的半透明组织碎片，请先 12000 rpm（ $\sim 13400 \times g$ ）离心 2 min，取上清液加入过滤柱 C6；骨骼肌样本建议离心。

b. 向滤液中加入 0.5 倍滤液体积无水乙醇（一般为 250 μ L 乙醇，加入后可能会出现浑浊或絮状物），混匀；

c. 将混匀后的滤液全部转移至吸附柱 N8，12000 rpm（ $\sim 13400 \times g$ ）离心 30 sec，弃滤液；

d. 将吸附柱 N8 装回新的收集管，加入 700 μ L 去蛋白液 RW1，12000 rpm（ $\sim 13400 \times g$ ）离心 30 sec，弃滤液；

e. 将吸附柱 N8 装回收集管，加入 700 μ L 漂洗液 RW2，12000 rpm（ $\sim 13400 \times g$ ）离心 30 sec，弃滤液；

f. 将吸附柱 N8 装回收集管，加入 500 μ L 漂洗液 RW2，12000 rpm（ $\sim 13400 \times g$ ）离心 30 sec，弃滤液；

g. 将吸附柱 N8 装回收集管，12000 rpm（ $\sim 13400 \times g$ ）离心 2 min，此步应彻底去除吸附柱 N8 中残留乙醇；

h. 将吸附柱 N8 转移至新的 1.5 mL RNase-Free 离心管中，向吸附柱 N8 中加入 30 ~ 100 μ L RNase-Free ddH₂O 后静置 1 min，12000 rpm（ $\sim 13400 \times g$ ）离心 30 sec 洗脱 RNA；

注：最终洗脱体积不低于 30 μ L。为提高 RNA 产量，可将 RNase-Free ddH₂O 于 55°C 预热后使用或进行二次洗脱。提取的 RNA 可直接用于下游实验或 -80°C 保存。

储存及运输条件

15 ~ 30°C 干燥条件下可保存 12 个月；15 ~ 30°C 运输。

常见问题及解决方法

问题	可能原因	解决方案
过滤柱 C6 堵塞	加入样本量过多。	减少样本投入量。
	组织裂解不充分。	充分研磨至无肉眼可见明显团块，肌肉组织需加入蛋白酶 K。12000 rpm（ $\sim 13400 \times g$ ）离心 2 min，取上清液加入过滤柱 C6。
RNA 降解	提取的组织不新鲜。	采用新鲜组织，组织匀浆在冰上进行避免高温导致 RNA 降解。
	样本保存不当或反复冻融。	样本置于 -80 °C 保存，建议依量分装避免反复冻融。
	电泳污染或电泳环境污染。	电泳槽使用 DEPC 水清洗数次后，更换新电泳液。