



通用型总RNA提取试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100024

产品介绍

本产品可用于多种样本类型的总 RNA 提取，涵盖动物组织、全血、细胞、植物组织、酵母菌、大型真菌（香菇、杏鲍菇等）以及革兰氏阴性菌。本裂解液 TZ 具有优异的裂解效果，配合使用核酸特异性吸附柱得到的总 RNA 纯度高，无杂蛋白、gDNA 的污染，可直接用于 RT-PCR、Real-Time PCR、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
通用型总 RNA 提取试剂盒	50 rxns
	100 rxns

产品组成

组分	50 rxns	100 rxns
裂解液 TZ	60 mL	120 mL
RNA 萃取剂	12 mL	24 mL
去蛋白液 RW1	24 mL	48 mL
漂洗液 PW	12 mL	24 mL
RNase-Free ddH ₂ O	8 mL	15mL
吸附柱 N8	50 个	100 个
收集管	50 个	100 个

产品用途

本产品适用于动物组织、全血、细胞、植物组织、酵母菌、大型真菌（香菇、杏鲍菇等）以及革兰氏阴性菌等多种不同类型样本的总 RNA 提取。

产品特点

操作方便、适用范围广、RNA 提取总量高。

注意事项

1. 使用本试剂盒时，请穿戴实验服、乳胶手套、口罩等防护品。使用 RNase-free 耗材，避免 RNase 污染；
2. 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瓶盖；
3. 使用前请按标签所示向去蛋白液 RW1、漂洗液 PW 中加入适量无水乙醇；
4. 实验过程中使用预冷的 1.5 mL 离心管、吸附柱 N8 等可提升 RNA 提取效果。

操作步骤

样品准备

- a. 适用范围：动物组织、全血、细胞、植物组织、酵母菌、大型真菌（香菇、杏鲍菇等）以及革兰氏阴性菌。
- b. 自备材料：异丙醇、无水乙醇、1.5 mL RNase-free 离心管等。

总 RNA 提取

1. 裂解样本



a. 动物组织：取不超过 100 mg 新鲜组织（通常推荐 20 mg，鼠脾推荐为 5 mg；小鼠骨骼肌、心肌推荐为 50 mg），加入 1 mL 裂解液 TZ 进行充分匀浆；或液氮研磨后加入 1 mL 裂解液 TZ 吹吸或震荡至无团块，室温静置 5 min。

注：使用玻璃研磨匀浆器请在冰上操作，避免高温导致 RNA 降解。

b. 悬浮细胞（细胞量推荐为 5×10^6 个，通常不超过 5×10^7 个）：取适量培养液，4℃离心后收集细胞。加入 1 mL 裂解液 TZ 至样品中，用移液枪吸打混匀至无明显细胞团，室温静置 5 min。

c. 贴壁细胞（细胞量推荐为 5×10^6 个，通常不超过 5×10^7 个）：去除培养基加入 1 mL 裂解液 TZ，用移液枪吸打数次让细胞脱落（对于贴壁牢固的培养细胞可用细胞刮勺剥离细胞），室温静置 5 min。

d. 植物组织：取不超过 100 mg 新鲜植物组织（通常推荐为 50 mg）移至研钵，加入一定量的液氮，迅速研磨，液氮挥发完后，再次加入液氮进行研磨，反复 3 次，研磨后加入 1 mL 裂解液 TZ 吹打混匀，转移至离心管中室温静置 5 min。

e. 香菇、杏鲍菇等大型真菌样本：取不超过 100 mg 新鲜样本（通常推荐为 50 mg）移至研钵，加入一定量的液氮，迅速研磨，液氮挥发完后，再次加入液氮进行研磨，反复 3 次，研磨后加入 1 mL 裂解液 TZ 吹打混匀，转移至离心管中室温静置 5 min。

f. 酵母样本：取 1 mL 对数生长期的酵母菌菌液，5000 r/min ($\sim 5590 \times g$) 离心 5 min，去掉上清液，将菌体移至研钵，加入一定量的液氮，迅速研磨，液氮挥发完后，再次加入液氮进行研磨，反复 3 次。将研磨后的菌粉加入 1 mL 裂解液 TZ 震荡混匀，室温静置 5 min。

注：裂解液加入研钵后预冷会析出，静置 2~3min 待溶化后再进行吹打混匀。

g. 革兰氏阴性菌：取 1~2 mL 过夜培养的革兰氏阴性菌，12000 rpm ($\sim 13400 \times g$) 离心 2min，去掉上清液，加入含溶菌酶 TE 缓冲液 0.1 mL (溶菌酶浓度为 1 mg/mL)，吹打混匀，室温静置 5 min，加入 1 mL 裂解 TZ 吹打混匀，室温静置 5 min；

2. 向处理后的样本中加入 0.2 mL RNA 萃取剂，震荡混匀 30 sec，室温孵育 3 min。

3. 4℃，12000 rpm ($\sim 13400 \times g$) 离心 10 min，吸取上清液至新的 1.5 mL 离心管。

注：尽量不要吸取到中间层，必要时可保留部分水相不吸取。

4. 样本处理后上清加入等体积的异丙醇，颠倒混匀数次。

注：加入异丙醇后可能会出现浑浊或絮状物。

5. 转移部分滤液及沉淀至吸附柱 N8 中，室温 12000 rpm ($\sim 13400 \times g$) 离心 30 sec，弃滤液。重复此操作全部滤液过吸附柱 N8。

6. 加入 500 μ L 去蛋白液 RW1，室温 12000 rpm ($\sim 13400 \times g$) 离心 30 sec，弃滤液。

7. 加入 500 μ L 漂洗液 PW，室温 12000 rpm ($\sim 13400 \times g$) 离心 30 sec，弃滤液。重复此操作一次。

8. 室温 12000 rpm ($\sim 13400 \times g$) 离心 2 min，彻底去除吸附柱中残留的乙醇。

9. 将吸附柱 N8 转移至新的 1.5 mL 离心管，向吸附柱中加入 50~100 μ L RNase-Free ddH₂O，室温静置 1 min。

10. 室温 12000 rpm ($\sim 13400 \times g$) 离心 1 min，得到 RNA 溶液。

注：将 RNase-Free ddH₂O 预热至 55℃或二次洗脱可提高 RNA 得率。

11. 提取的总 RNA 可直接用于下游实验或 -80℃临时保存。

■ 储存和运输条件

裂解液 TZ 置于 2~8℃保存，可保存 12 个月，冰袋运输。

其余试剂室温（15~30℃）保存，有效期 12 个月，常温（15~30℃）运输。

■ 常见问题及解决方

常见问题	可能原因	解决方案
RNA 产量低	样品起始用量太少或者太多。	根据说明书给出的参考用量及实际情况来决定样品用量。



RNA 降解	不正确的洗脱方式。	向吸附柱中心加洗脱液，并在离心前室温孵育 1 分钟。
	样品匀浆不充分，裂解时间不够。	处理培养细胞时，反复吹打裂解液 TZ 进行裂解。
	被核糖核酸酶污染。	操作过程戴一次性干净手套；在单独洁净的区域操作；使用 RNase-free 的实验器具。
	样本不新鲜或反复冻融。	使用新鲜样品或在-80℃下冷冻的样品；快速处理避免降解。
蛋白多糖污染	吸取 RNA 上清时吸取到中间层。	吸取 RNA 上清时保留部分水相不吸取；如吸取到中间层请重新离心后再次吸取。

