



培养细胞/细菌总RNA快速提取试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100025

一、产品介绍

本产品基于硅胶柱纯化技术，可以用于细胞和细菌总 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，20 min 即可完成实验操作。本试剂盒采用膜过滤的方法去除基因组 DNA，提取到的总 RNA 产物纯度高、杂质蛋白和基因组 DNA 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。

二、产品目录

产品名称	规格
培养细胞/细菌总 RNA 提取试剂盒	50 rxns

三、产品组成

组分	50 rxns
裂解液 GAL	30 mL
去蛋白液 RD	20 mL
漂洗液 PW	15 mL
RNase-Free ddH ₂ O	15 mL
过滤柱 C6	50 个
吸附柱 N8	50 个
收集管	100 个

四、产品用途

用于细胞、细菌的总 RNA 提取。

五、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。

六、注意事项

1. 使用前请按标签所示向去蛋白液 RD 和漂洗液 PW 中加入适量无水乙醇；
2. 使用前请检查裂解液 GAL、去蛋白液 RD 中是否有沉淀析出，如果有，37℃水浴待沉淀溶解后继续使用；
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。

七、操作步骤

一、样本处理



1 细胞样本

1.1 样本裂解

a. 悬浮细胞

取适量培养液，细胞量建议不超过 5×10^6 ，500 ×g 离心 5 min 收集细胞。加入 500 μL 裂解液 GAL 至样品中，用移液枪吸打混匀至无明显细胞团即可；

b. 贴壁细胞

取适量细胞，细胞量建议不超过 5×10^6 ，去除培养基加入 500 μL 裂解液 GAL，用移液枪吹吸数次让细胞脱落；或用胰酶消化，500 ×g 离心 5 min 收集细胞，加入 500 μL 裂解液 GAL 至样品中，用移液枪吹吸混匀至无明显团块即可；

1.2 （可选步骤）

加入 20 μL 蛋白酶 K 混匀后室温孵育 5 min；

1.3 样本过滤

转移裂解后样本至过滤柱 C6 中（过滤柱 C6 装在收集管上）。12000 rpm（~13400×g）离心 1 min，收集滤液；

2 细菌样本

2.1 样本裂解（以下裂解方式选择一种即可）

2.1.1 溶菌酶处理

a. 取 1~2mL 过夜培养的菌液，12000 rpm（~13400×g）离心 2 min 收集菌体，尽量将培养基上清去除干净，加入 100 μL 含溶菌酶的 TE 缓冲液（需自行配制，配制方法如下表），彻底重悬菌体，室温孵育，孵育时间如下表：

细菌类型	TE 缓冲液中的溶菌酶终浓度	孵育时间
革兰氏阴性菌	1mg/mL	3 ~ 5 min
革兰氏阳性菌	8mg/mL	5 ~ 10 min

b. 孵育完成后加入 400 μL 裂解液 GAL，旋涡震荡混匀；

2.1.2 液氮研磨

a. 取 1~2 mL 过夜培养的菌液，12000 rpm（~13400 ×g）离心 2 min 收集菌体，仔细去除培养基上清，加入 100 μL TE 缓冲液（需自备）吹打混匀，吸取重悬后的菌液至研钵中，加入液氮进行研磨；

b. 加入 500 μL 裂解液 GAL 至研钵中，此时裂解液会析出，室温放置 3~5 min，待裂解液重新溶解后，吹打混匀，转移至 1.5mL 无菌无酶 EP 管中；

2.2 样本过滤

裂解好的细菌产物 12000 rpm（~13400×g）离心 1 min，将上清液转移到过滤柱 C6 中（过滤柱 C6 装在收集管上），12000 rpm（~13400×g）离心 1 min，收集滤液；

注：吸取上清时注意不要吸到底部膏状物沉淀，否则会可能会堵塞过滤柱 C6。

二、RNA 提取

1. 向滤液中加入 0.5 倍滤液体积无水乙醇（一般为 250 μL 乙醇，加入后可能会出现浑浊或絮状物），吹打混匀；
2. 将混匀后的滤液全部转移至吸附柱 N8 中（吸附柱 N8 装在新收集管上），12000 rpm（~13400×g 离心 30 sec，弃滤液；
3. 将吸附柱 N8 装回新的收集管，加入 500 μL 去蛋白液 RD，12000 rpm（~13400×g）离心 30 sec，弃滤液；
4. 将吸附柱 N8 装回收集管，加入 700 μL 漂洗液 PW，12000 rpm（~13400×g）离心 30 sec，弃滤液；
5. 将吸附柱 N8 装回收集管，加入 500 μL 漂洗液 PW，12000 rpm（~13400×g）离心 30 sec，弃滤液；
6. 将吸附柱 N8 装回收集管，12000 rpm（~13400×g）离心 2 min，将吸附柱置于室温开盖放置 3~5min，以彻底晾干吸附柱 N8 中的液体；



7. 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 50 ~ 100 μ L RNase-Free ddH₂O 后静置 1 min，12000 rpm (~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 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 保存。

■ 储存及运输条件

15 ~ 30 $^{\circ}$ C 干燥条件下可保存 12 个月，15 ~ 30 $^{\circ}$ C 运输。

■ 常见问题及解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
RNA 得率低	破除细胞壁不彻底	增加溶菌酶孵育时间或提高浓度；直接对菌体进行液氮研磨。
	样本用量过多	按说明书要求适量取样。
RNA 降解	样品过量，影响裂解液的裂解能力，RNase 未被充分抑制，导致 RNA 降解	按照说明书要求适量取样。若要增加样本起始量，含溶菌酶的 TE 缓冲液和裂解液 GAL 也需要等比例增加。对内源性 RNase 含量较多的样本，适当增加裂解液的量。
	环境、试剂和耗材中含有 RNase	使用 RNase-Free 的试剂和耗材；建议在超净台中进行操作。
	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。
DNA 污染	样本用量过多	按说明书要求适量取样。
	次生代谢物过多	次生代谢物含量高的样本在提取 RNA 容易出现 DNA 污染。