

实验前准备

1. 取适量TRK裂解液，按1ml裂解液加入20ul 2-巯基乙醇。该混合液可于室温放置一周。
2. 用DEPC水配置一小瓶70%乙醇。
3. 按下表用无水乙醇稀释RNA Wash Buffer II，并于室温保存。
R6834-00: 加入8ml无水乙醇
R6834-01: 加入48ml无水乙醇
R6834-02: 加入192ml无水乙醇

离心操作方案

1. 使用前每1ml TRK裂解液加入20ul 巯基乙醇。
 - A. 悬浮培养细胞：离心收集细胞，倒弃溶液，弹松沉淀团，加入TRK裂解液吸打裂解细胞；
 - B. 贴壁培养细胞：倒弃培养基，加入TRK裂解液至培养瓶中，吹打裂解细胞；
 - C. 已沉淀的细胞：弹松细胞团，加入TRK裂解液吸打裂解细胞；
进一步匀浆：细胞裂解后会形成非常粘稠的溶液，可用20#针头注射器抽打裂解液几次；
<5×10⁶ Cells: 350ul TRK/2-Me; <1×10⁷ Cells: 600ul TRK/2-Me;
 - D. 动物软组织：称取适量样品，加入TRK裂解液匀浆样品。室温14,000×g离心5 min
去除不溶解的杂质，小心转移上清至1.5ml 离心管；
<15mg Tissue: 350ul TRK/2-Me; 20-30mg Tissue: 600ul TRK/2-Me;
2. 加入等倍体积70%乙醇(350/600ul)至裂解液中，抽打或涡旋混匀。
3. 将柱子套在收集管中，转移混合液至柱子中。室温10,000×g离心30-60秒，弃去滤液。
若混合液超过700ul，每次转移700ul至柱子，然后重复该步骤至所有混合液都滤过柱子。
4. 把柱套放回新收集管中，加入300ul RNA Wash Buffer I 至柱子上，按以上条件离心，弃去滤液。把柱套放回收集管中。若要进行膜上DNase 消化，按步骤5进行，否则转至第6步。
5. DNase 消化(可选)
 - 5A. 配制DNASE消化液(Digestion Buffer, 73.5ul; RNase-Free DNase I, 1.5ul), 混匀。
 - 5B. 将上述消化液转移至柱子膜的正中央，不要将消化液转移至柱子内壁。
 - 5C. 室温静置15分钟。
6. 加500ul RNA Wash Buffer I 至柱子，按以上条件离心，弃滤液。
7. 把柱套放回收集管中，加500ul RNA Wash Buffer II至柱子上，按以上条件离心，弃滤液。
8. 把柱套放回新收集管中，加500ul RNA Wash Buffer II至柱子上，按以上条件离心，弃滤液。
9. 把柱套放回收集管中，10,000×g离心空柱2min 以甩干柱子基质。
10. 把柱子装在1.5ml 离心管上，加入30-100ul DEPC Water柱子基质上，室温静置2min。
10,000×g离心1min洗脱出RNA。

快速流程图



订货信息

品名	组织用量	最大结合力	货号 and 次数	价格
Total RNA Kit I	< 5×10^6 Cell 10-30mg	100 μ g	R6834-00(5)	¥135
			R6834-01(50)	¥900
			R6834-02(200)	¥3500
Total RNA Midi Kit	< 10^8 Cell 200mg	1mg	R6664-00(2)	¥261
			R6664-01(10)	¥675
			R6664-02(25)	¥1620
Total RNA Maxi Kit	< 5×10^8 Cell 1g	5mg	R6693-01(5)	¥675
			R6693-02(20)	¥2520
MicroElute Total RNA Kit	< 5×10^5 Cell <5mg	50 μ g	R6831-00(5)	¥144
			R6831-01(50)	¥1350
			R6831-02(200)	¥4770
HP Total RNA Kit	5×10^6 Cell <30mg	100 μ g	R6812-00(5)	¥150
			R6812-01(50)	¥1200
			R6812-02(200)	¥3800