

实验前准备

1. 实验用具及器皿均应严格按照RNA实验要求处理。
2. 准备好氯仿。
3. 按下表用无水乙醇稀释RNA Wash Buffer II, 并于室温保存。

R6934-00: 加入8ml无水乙醇

R6934-01: 加入48ml无水乙醇

R6934-02: 每瓶中加入48ml无水乙醇

离心操作方案

1. 称取20–50mg动物组织或 $<10^7$ 培养细胞或50–100mg经液氮研磨好的植物样品至1.5ml离心管, 加入1ml RNA-Solv Reagent。
2. 匀浆裂解样品, 室温静置2–3分钟。
3. 加入200ul氯仿剧烈涡旋15秒, 冰上放置10分钟。
4. 4度, $12,000\times g$ 离心15min。
5. 小心转移上清至离心管, 加入1/3~1/2倍体积的无水乙醇混匀。
对于肝脏等蛋白丰富的样品, 加入1/3倍体积的无水乙醇可提高产量。
6. 转移700ul混合液至套在收集管RNA柱子中。室温下 $10,000\times g$ 离心30秒, 弃去滤液。
7. 重复第六步至所有的混合液全部从柱子中过滤。
8. 把柱子套回收集管, 加300ul RNA Wash Buffer I至柱子中, 按上柱条件离心, 弃滤液;
9. (可选) DNase I消化:
 - 9a. 配制DNase消化液(Digestion Buffer, 73.5ul; RNase-Free DNase I, 1.5ul), 混匀。
 - 9b. 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。
 - 9c. 室温静置15分钟。
10. 把柱子套回收集管, 加入400ul RNA Wash Buffer I 洗涤柱子, 按以上条件离心, 弃去滤液。
11. 把柱子套回收集管, 加入500ul RNA Wash Buffer II 洗涤柱子, 按以上条件离心, 弃去滤液。
使用前, RNA Wash Buffer II需要用无水乙醇稀释。
12. 把柱子套在新收集管, 加入500ul RNA Wash Buffer II 洗涤柱子, 按以上条件离心, 弃去滤液。 $10,000\times g$ 离心空柱2min以上甩干柱子基质。
注意: 不要忽略此步 – 这对从柱子上除去乙醇至关重要。
13. 把柱子装在干净的1.5ml离心管中, 加30–50ul DEPC Water到柱子基质, 室温静置2min。
 $\geq 10,000\times g$ 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 II	Animal: 20-50mg	100 μg	R6934-00(5)	¥150
	Plant: 50-100mg		R6934-01(50)	¥900
	Cells: 10^7		R6934-02(200)	¥3500
Total RNA Midi Kit II	Animal: 200mg	1 mg	R6754-00(2)	¥240
	Plant: 500mg		R6754-01(10)	¥650
	Cells: 10^8		R6754-02(25)	¥1560
Total RNA Maxi Kit II	Animal: 1g	5 mg	R6755-01(5)	¥640
	Plant: 5g		R6755-02(20)	¥2400
	Cells: 5×10^8			
Micro RNA Kit	Animal: 50mg	Large: 100 μg	R6842-00(5)	¥140
	Plant: 100mg		R6842-01(50)	¥900
	Cells: 10^7	Micro: 50 μg	R6842-02(200)	¥3000
RNASolv Reagent	Animal, Plant, Cells		R6830-01(100ml)	¥810
	Solution-Based System		R6830-02(200ml)	¥1575