

R6688 Tissue RNA Kit

简易中文步骤

√实验前请按说明书正确配制 RNA Wash Buffer II

➤ 使用【无水乙醇】对 RNA Wash Buffer II 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
R6688-00	8mL
R6688-01	48mL
R6688-02	48mL (每瓶)

提取步骤:

1. 从动物或存储的样品中将切下样品，称量 10-30mg 组织将其放入合适的器皿中捣碎。建议取样不要超过 30mg;
2. 加入 300 μ l TRK lysis Buffer/2-ME 将样品充分研磨混匀;
Note: β -巯基乙醇是变性 RNase 的关键，必须在使用前加入等分的 TRK lysis Buffer 中。每 1 毫升 TRK lysis Buffer 加入 20 μ l β -巯基乙醇。混入 β -巯基乙醇后的 TRK lysis Buffer 可在室温下储存 1 周。
3. 吸取 300 μ l 不含 RNase 的无菌水到匀浆液中，加入 10 μ l OB Protease 混匀，55 $^{\circ}$ C 孵育 10min;
4. 室温下， $\geq 14,000$ 离心 3min，可能会有小颗粒形成组织碎片，在上清液表层可以观察到薄层或薄膜;
5. 转移上清液到 1.5mL 新的离心管中，加入 0.5 倍体积的无水乙醇，充分混匀;
Note: 转移上清时应该尽量避免吸到小颗粒，将枪头伸到液面以下吸取溶液转移。
6. 将 HiBind[®] RNA Mini column 套入到 2mL 收集管中，转移 700 μ l 步骤 5 中的样品至 HiBind[®] RNA Mini column，室温下 10,000xg 离心 1min，弃滤液;
7. 重复步骤 6 直至将步骤 5 中的混合液全部转移过柱;
8. 将 HiBind[®] RNA Mini column 套回到 2mL 收集管中，加入 300 μ l RNA Wash Buffer I，室温下 10,000xg 离心 1min，弃滤液并将 HiBind[®] RNA Mini column 套回到 2mL 收集管中; 如果不需要进行 DNase 消化步骤，则用 700 μ l RNA Wash Buffer I 进行洗涤，并跳转至第 10 步;
9. (选做) DNase 消化:
 - 1) 向 1.5mL 的离心管中加入 1.5 μ l DNase I 和 73.5 μ l DNase I Digestion Buffer，上下颠倒混匀后 (不要涡旋，DNase 容易发生物理变性) ;
 - 2) 将混匀的溶液加入到 HiBind[®] RNA Mini column 中，室温静置 15min;
 - 3) 加入 400 μ l RNA Wash Buffer I 到 HiBind[®] RNA Mini column 中，室温静置

5min, 10,000xg 离心 30s, 弃滤液;

10. 将 HiBind® RNA Mini column 套入到新的 2mL 收集管中, 加入 500µl RNA Wash Buffer II (已加无水乙醇稀释), 室温下 10,000xg 离心 30s, 弃滤液;

Note: RNA Wash Buffer II 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。

11. 将 HiBind® RNA Mini column 套回到 2mL 收集管中, 加入 500µl RNA Wash Buffer II, 室温下 10,000xg 离心 1min, 弃滤液;

12. 将 HiBind® RNA Mini column 套回到 2mL 收集管中, 最大速度 ($\geq 12,000xg$) 空柱子离心 2min;

13. 将 HiBind® RNA Mini column 套入到新的 1.5mL 离心管中, 加入 30-50µl DEPC Water, 室温下静置 2min, 10,000xg 离心 1min 洗脱 RNA;

如果预期的 RNA 大于 30µg, 另取相等体积的 DEPC Water 加入到 HiBind® RNA Mini column 中重复洗脱步骤。 如果为了获得更高浓度的 RNA, 可以将第一次用来洗脱的 DEPC Water 再次转回 HiBind® RNA Mini column 中重复洗脱步骤 (步骤 13)

14. 将 RNA 保存于-70°C。

中文翻译仅供辅助阅读, 详情请以英文说明书为准