

# Ambion 石蜡抽提方法——RNA

## 1 试剂及仪器

试剂盒: RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit, Ambion-1975

仪器: 冷冻离心机: ST16R, Thermo

凝胶成像系统: Tanon 2500, 天能公司

紫外分光光度计: NanoDrop 2000, Thermo

## 2 实验步骤

- A. 加 200μl Digestion Buffer, 加 4μl Protease, 振荡混匀, 快速离心。
- B. 50°C 15min; 振荡混匀, 快速离心; 80°C 15min, 振荡混匀, 快速离心。
- C. 加 240μl I Solution Additive 加 550μl 100%乙醇。混匀。加入样品。
- D. 转移至柱子中(最大体积 700ul), 10000 g, 离心 30 秒。倒去溶液。
- E. 加入 350μl Wash I, 10000 g, 离心 30 秒。倒去溶液。
- F. 混合 60ul 混合液(6ul 10\*DNase Buffer, 4ul DNase, 50ul Nuelease-free water), 室温放置 30 min。
- G. 加入 350μl Wash I, 10000 g, 离心 30 秒。倒去溶液。
- H. 加入 500μl Wash 2/3, 10000 g, 离心 30 秒。倒去溶液。
- I. 再加入 500μl Wash Solution 2/3, 10000 g, 离心 30 秒。倒去溶液。
- J. 空柱离心 1 分钟。将离心柱放置到新的收集管中。
- K. 在柱中心加 60μl Elution Solution, 室温最高转速离心 1 分钟, 收集管中的液体即为提取的 Total RNA, 可放置在-70°C 保存。