

### 实验前准备

1. 取适量RB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。

R6840-00: 加入8ml无水乙醇

R6840-01: 加入48ml无水乙醇

R6840-02: 每瓶加入48ml无水乙醇

### 离心操作方案

1. 称取50-100mg经液氮研磨成粉末状的真菌样品至1.5ml离心管，立即加500ul RB/2-Me，剧烈涡旋。
2. 室温14,000×g离心5min，小心转移上清至匀浆柱中。14,000×g离心2min。
3. 转移收集管中的上清（注意不要吸到沉淀）至新离心管，加入0.5倍体积无水乙醇或等体积的70%乙醇，吸打或涡旋混匀。（一般可转移450ul的上清液，可加入225ul无水乙醇）。
4. 把RNA柱套在新收集管，转移混合液至RNA柱子。室温10,000×g离心30-60秒，弃去滤液。  
如果出现堵柱现象，提高离心速度至14,000xg。
5. (可选)膜上DNase消化：
  - 5a. 加入300ul RNA Wash Buffer I至柱子中，按上柱条件离心，弃滤液；
  - 5b. 配制DNase消化液(Digestion Buffer, 73.5ul; RNase-Free DNase I, 1.5ul)，混匀。
  - 5c. 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。
  - 5d. 室温静置15分钟。
6. 加入400ul RNA Wash Buffer I至柱子中，按以上条件离心，弃去滤液和收集管。
7. 把柱子套在新收集管，加入500ul RNA Wash Buffer II 至柱子，按以上条件离心弃去滤液。
8. 把柱子套回收集管，加入500ul RNA Wash Buffer II 至柱子，按以上条件离心弃去滤液。
9. 10,000xg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。
10. 把柱子装在干净的1.5ml离心管上，加入30-50ul DEPC Water到柱子基质上室温静置2min。  
10,000xg离心2min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
Fungal RNA Kit	50-100mg	100 µg	R6840-00(5)	¥140
			R6840-01(50)	¥900
			R6840-02(200)	¥3000
Plant RNA Midi Kit	500mg	500 µg	R6628-01(10)	¥810
			R6628-02(25)	¥1935
Plant RNA Maxi Kit	2g	2000 µg	R6629-01(5)	¥810
			R6629-02(20)	¥2880
E-Z 96 Plant RNA Kit	50mg/well	100 µg	R1027-01(2x96)	¥2700
			R1027-02(8x96)	¥9900
Plant RNA Kit	50-100mg	100 µg	R6827-00(5)	¥170
			R6827-01(50)	¥900
			R6827-02(200)	¥3400