

纳米磁珠法真菌基因组 RNA 提取

1) Lysis Cell and Remove Protein

加 200ul **FR11** 到 1.5ml 干净离心管
取 20mg 新鲜菌丝体到 上述离心管, **充分研磨**(关系到 RNA得率)
加 400ul 70°C 预热的 **FR11** 到上步 1.5ml 离心管, 振荡打散10秒钟
70°C 水浴 5 min x2, 期间间断混匀

加 100 ul **FR22**, 100ul 无水乙醇, 振荡打散10秒钟, 室温 5分钟, 离心 13k rpm, 3分钟

2) Bind RNA to Nano Beads (RNB)

取约 700 ul 上清液体到新的 1.5ml 离心管中
加 0.6倍体积 **IPA**, 20ul 刚混匀的 **RNB 磁珠** 到上步的离心管, 颠倒混匀 10次
室温 5 min, 期间间断混匀

把上步的离心管放到磁力分离架上 3min, 弃上清

3) Purify RNA

加 500 ul **RWB22** 到上步的离心管, 振荡打散10秒钟, 放到磁力分离架上, 1 min, **弃干净**上清

4) Remove DNA: DNaseI 的用量取决于DNA含量及DNase 的活性, 可参照下述方法去除 DNA。

加 50 μ l 1xDNA酶Buffer和 0.5 μ l DNA酶I (5U/ μ l) 混匀, RT 5min
加 500 μ l **RWB22**, RT 3min, 磁力架2min, 弃液体

5) Release RNA

加 100 ul **REB** 到上步的离心管, 振荡打散10秒钟)
室温 5-10 min, 振荡打散10秒钟, 放到磁力分离架上 **5分钟**

把上清液转到没有 RNase 的干净离心管里(注意不要取到磁珠)

跑胶及测试 RNA样品吸光度。每个胶孔加 2-5ul RNA溶液 跑 1% 胶, RNA 冷冻保存

如果您其他问题, 请联系善诺客服。