

ISOGEN、ISOGEN-LS

RNA 提取试剂

使用 ISOGEN 从骨头提取 RNA

使用 ISOGEN 从大鼠脊椎提取总 RNA，并检测其回收量及纯度。

操作流程

取出大鼠的脊椎，快速去除粘附的肌肉^{*1}

↓

使用液态氮磨碎脊椎

↓

粉末状组织 0.5 g

↓ ← ISOGEN 5 ml

使用 Polytron 均匀化

↓

静置（室温、5 分钟）^{*2}

↓ ← 氯仿 2 ml

激烈混合（2 分钟）

↓

静置（室温、3 分钟）

↓

离心（5,000 rpm、4° C、15 分钟）

↓

各样本回收 2.5 ml 的上清

↓ ← 异丙醇 2.5 ml ^{*3}

静置（室温、10 分钟）

↓

离心（5,000 rpm、4° C、10 分钟）

↓

去除上清

↓

75% 乙醇洗净（2 次）

↓

溶解于 ddH₂O

↓

乙醇沉淀

↓

75% 乙醇清洗（2 次）

↓

溶解于 ddH₂O 300 μl

^{*1} 无法完全去除，残留少量肌肉。

*2 将室温静置 5 分钟改变为「静置（室温、30 分）→离心（5,000 rpm、4° C、10 分钟）→回收上清」，结果相差不大。

*3 添加异丙醇 1.25 ml 及 High Salt Precipitation Solution 1.25 ml 代替异丙醇 2.5 ml，结果相差不大。添加了 High Salt Precipitation Solution 的样本中，异丙醇沉淀后有结晶生成。使用 75%乙醇对结晶清洗了 2 次，仍无法去除，但溶解于 ddH₂O 后，再次用乙醇清洗后，结晶消失。

结果

使用 50mM Tris-HCl (pH8.0) 99 μ l 稀释上述操作中提取的 1 μ l RNA 溶液，并进行吸光度检测。

OD260	OD280	OD260/280	回收量 (μ g)
0.3878	0.1744	2.2241	466