

# 提取动物关节软骨组织总RNA

## 实验目的

研磨破碎软骨组织（大鼠膝关节软骨），提取其总RNA。

## 实验原理

充分磨碎软骨样品（大鼠膝关节软骨），再用相关试剂提取其总RNA。

## 实验材料和器具

样品：大鼠膝关节软骨

仪器：多样品组织研磨仪（上海净信，Tissuelyser-24）

耗材：研磨罐（上海净信，\*\*\*ml），研磨珠（上海净信，\*\*\*mm，\*\*\*颗）

试剂：液氮若干

## 实验步骤

### 1. 研磨软骨组织

1.1 取适量大鼠膝关节软骨组织，剪切成约\*\*\*立方厘米小块；

1.2 将小块软骨组织置于液氮中\*\*\*分钟或放入\*\*\*度冰箱冷冻30分钟；

1.3 将样品和研磨珠放入研磨罐中，盖好盖子；

1.4 将装好样品及钢珠的研磨管，放入已经在\*\*\*度冰箱预冷好的适配器中，加入变性液， $\beta$ -巯基乙醇；

1.5 将适配器放入净信研磨仪中，在\*\*\*hz条件下，研磨\*\*\*min，可得到匀浆状的软骨组织；

### 2. 总RNA提取

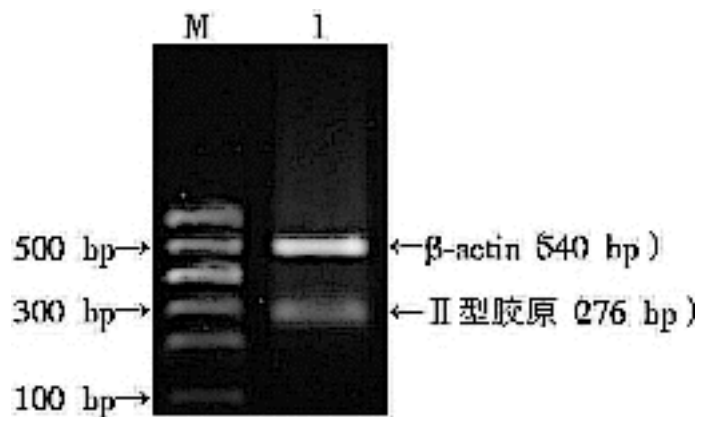
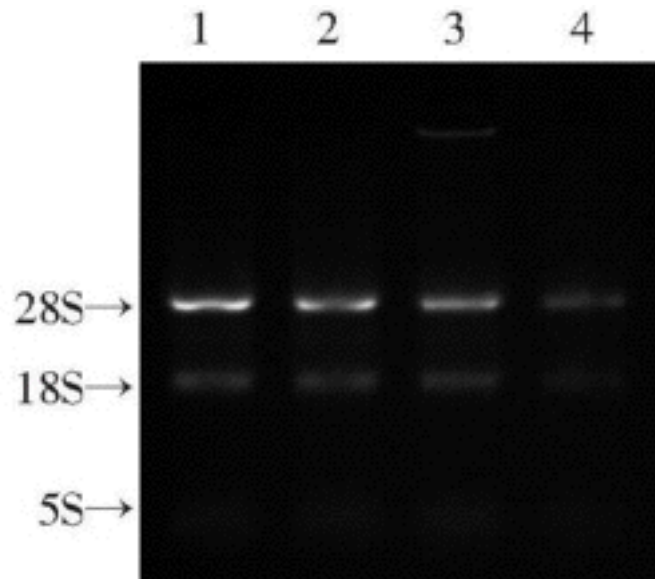
2.1 冰水浴下，加酸性水饱和酚，摇匀，加醋酸钠，氯仿、异戊醇混合液，冰水浴上\*\*\*min；

2.2 \*\*\*°C下，离心，取上清液，加氯仿、异戊醇混合液，离心取上清，加异丙醇，\*\*\*°C下沉淀，离心，得到凝胶状RNA和蛋白多糖混合沉淀，加无RNA酶水，溶解得胶状溶液；

2.3 取胶状溶液用plant RNAout试剂盒的RNA提取步骤得到总RNA沉淀，取沉淀，乙醇洗涤后用无RNA酶水溶解沉淀，即得关节软骨组织总RNA溶液。

## 实验结果

采用本实验方法提取的动物关节软骨组织总RNA的收率高，并且纯度高、质量、完整性好，可以满足分子生物学研究应用。



总RNA甲醛变性胶电泳结果

II型胶原PCR扩增产物电泳结果