组织总RNA的提取步骤

使用E.Z.N.A.TM Total RNA Kit II试剂盒（OMGEA）提取肠道组织总RNA，具体操作步骤如下所示：

⑴ 取约500 mg肉鸡十二指肠组织，剪刀剪碎后放入预先加入液氮预冷的研钵中速冻，用研钵棒研磨组织至粉末状。取约100 mg粉末状组织迅速加入DEPC水处理过的1.5 ml EP管中，并即刻加入1 ml RNA-SolvTM Reagent，室温静置孵化裂解2~3 min；

⑵ 加入0.2 ml氯仿，盖紧盖子在漩涡混合器上剧烈涡旋15 s，冰上孵浴10 min；

⑶ 12 000 × ***g***、4 ℃离心15 min后，小心吸取上层水相80%的量，转入另一新的1.5 ml EP管中，并缓慢加入1/3体积的无水乙醇，上下颠倒轻轻混匀15 s；

⑷ 将混合液加入HiBind TM RNA纯化柱中（如果量较大，可分两次加入；在上一步加入无水乙醇后，可能会出现沉淀，如有沉淀，则需涡旋轻轻震荡），12 000 × ***g***、4 ℃离心1 min；

⑸ 弃废液，将纯化柱放入一新的2 ml的收集管中，加入300 µl RNA Wash Buffer I，12 000 × ***g***、4 ℃离心1 min。重复此步骤一次；

⑹ 弃废液，向纯化柱中加入500 µl RNA Wash Buffer II，12 000 × ***g***、4 ℃离心1 min。重复此步骤一次；

⑺ 弃废液，13 000 × ***g***、4 ℃离心3 min，使纯化柱干燥；

⑻ 将纯化柱放入到新的1.5 ml EP管中，向纯化柱中加入30-50 µl的DEPC水，尽量使DEPC水直接滴在纯化柱膜上，室温静置3 min；

⑼ 13 000 × ***g***、4 ℃离心1 min。离心管底部即为提取的RNA样品，-20 ℃保存备用。