# 多糖多酚植物总RNA提取试剂盒（天根）

**1 实验目的**

本实验流程是适用于普通植物组织RNA转录组、RNA-seq测序建库前期所用样品RNA提取的标准化操作流程（SOP），作为客户提供新鲜样品提取RNA的标准操作指南所涉及的生产试验条件及过程必须严格按照本实验流程进行。

**2适用范围**

本试剂盒可从植物组织，特别是富含多糖多酚或淀粉的植物组织（如棉花叶片，成熟水稻叶片，拟南芥种子，白松松针，香蕉，枇杷叶片，马铃薯块茎，苹果，梨，西瓜果肉，猕猴桃，月季，烟草，沙棘，百合等）中快速提取总RNA，可同时处理大量不同样品。

**3 实验原理**

总RNA提取的原理就是通过裂解液将细胞裂解，释放出RNA，并通过过柱去除蛋白、多糖多酚等杂质，最终获得高纯度的RNA的过程。

**4 实验仪器**

高速离心机、水浴锅、振荡器

**5 试剂耗材**

|  |  |
| --- | --- |
| 试剂 | 用量 |
| 天根多糖多酚植物总RNA提取试剂盒 | 1个 |
| 无水乙醇 | 1ml |

6 操作步骤

1. 按照客户要求将样本用液氮迅速研磨后，取50-100mg加入天根裂解液中，涡旋剧烈震荡混匀。
2. 12,500 rpm(~13,400×g) 离心5min。
3. 将上清液转移至过滤柱CS上(过滤柱CS放在收集管中)，12,500 rpm(~13,400×g) 离心1 min，小心吸取收集管中的上清至新的RNase-Free的离心管中，吸头尽量避免接触收集管中的细胞碎片沉淀。
4. 缓慢加入0.4倍上清体积的无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀），将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱CR3中，12,500 rpm(~13,400×g)离心1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CR3放回收集管中。注意：如果上清液体积有损失，请相应调整乙醇的加量。
5. 向吸附柱CR3中加入350 ul 去蛋白液RW1，放置2min，12,500 rpm(~13,400×g)离心1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CR3放回收集管中。
6. DNase I 工作液的配制：取10 ul DNase I 储存液放入新的RNase-Free离心管中，加入70 ulRDD溶液，轻柔混匀。
7. 向吸附柱CR3中央加入80 ul的DNase I 工作液，室温放置15 min。
8. 向吸附柱CR3中加入350 ul 去蛋白液RW1，放置2min，12,500 rpm(~13,400×g)离心15 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CR3放回收集管中。
9. 向吸附柱CR3中加入500 ul漂洗液RW （使用前请先检查是否已加入乙醇），12,500 rpm(~13,400×g)离心15 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CR3放回收集管中。
10. 重复步骤9。
11. 12,500 rpm(~13,400×g)离心2 min，将吸附柱CR3放入一个新的RNase-Free离心管（离心管上标明项目名称、样品名称和日期）中，向吸附膜的中间部位悬空滴加30ul RNase-Free ddH2O，室温放置2 min，12,500 rpm(~13,400×g)离心15 sec。

离心得到的RNA溶液再加入吸附柱CR3中，室温放置2 min，12,500 rpm(~13,400×g)离心2 min，得到RNA溶液。注意：洗脱缓冲液体积不应少于30 ul，体积过小影响回收效率。RNA样品请在-80℃中保存。