# 药用植物提取法

**1 实验目的**

本实验主要提取药用植物RNA

**2适用范围**

本标准操作规程适用于药用植物RNA提取，非此类样品RNA的提取流程与本标准操作规程不同，须按照其它样品RNA提取操作规程进行。

**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，并通过多次抽提去除蛋白、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

裂解液成分：4%SDS，1MNaAc，20% HAC（乙酸，V/V）,0.1%PVP;

|  |  |
| --- | --- |
| 试剂 | 用量 |
| 裂解液 | 900ul |
| 水饱和酚 | 500ul |
| 氯仿 | 400ul |
| 苯酚-氯仿（1:1） | 1.4ml |
| 异丙醇 | 1.4ml |
| 2M NaAc | 20ul |
| 75%乙醇 | 2ml |

6 操作步骤

1. 在2ml离心管中，加入900ul抽提液，称取30-50mg材料，在液氮中迅速研磨至细腻的粉末状，用液氮冷冻过的药匙转入离心管中，剧烈震荡，再加入500ul水饱和酚，剧烈震荡，4℃ 10000g离心20min；
2. 取出上清放入一新2ml离心管，加入400ul的氯仿，剧烈震荡，4℃ 10000g 离心10min；
3. 取出上清，放入一新2ml离心管，加入等体积的苯酚-氯仿（1:1，体积比），震荡，4℃ 10000g 离心10min；
4. 根据情况，如果上层水相与有机相之间还有杂质，重复步骤（3）；
5. 取出上清，加入等体积的异丙醇，-80℃放置20min，4℃ 10000g离心20min，沉淀即粗提RNA；
6. 弃去上清，超净工作台内用枪头小心吸出残留液体，加入80ul的DEPC水溶解沉淀，然后加入20ul 2M NaAc，pH4.1。（如果多管提取，可混合在一起操作）
7. 加入等体积的苯酚-氯仿，剧烈震荡，4℃ 12000g离心10min；
8. 取出上清，加入等体积苯酚-氯仿再抽提一次，重复步骤（7）直至上层水相与有机相之间没有杂质，4℃ 12000g离心10min；
9. 取出上清，加入等体积的异丙醇，-80℃放置20min，4℃ 12000g离心20min

将沉淀用75%乙醇洗涤2次，DEPC水溶解。