**多糖多酚植物总RNA提取试剂盒**

**（离心柱型）**

**货号：KTSM2904**

**■ 产品简介：**

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中快速提取总RNA，配合高效的吸附纯化系统，可同时处理大量不同样品。提取的总RNA纯度高，没有基因组、蛋白和其它杂质的污染，可做RNA印迹分析、斑点杂交、体外翻译、DNA合成等实验。

**■主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2904（50次）** |
| 裂解液SG1 | 30 ml |
| 裂解液SG2 | 30 ml |
| 去蛋白液RD | 16 ml |
| 漂洗液RW | 12 ml |
| RNase-Free-Water | 15 ml |
| DNaseⅠ | 1 ml |
| 10 × DNaseⅠ buffer | 500 µl |
| RNase-Free吸附柱R1（含2 ml收集管） | 50个 |
| RNase-Free过滤柱RF（含2 ml收集管） | 50个 |
| RNase-Free离心管（1.5 ml） | 50个 |

**■保存条件**：

DNase I，10×DNase I Buffer置于-20℃保存；其他溶液于室温（15-25℃）保存。

**■自备试剂**：

β-巯基乙醇、无水乙醇。

**■ 注意事项：**

（1）第一次使用前请先在去蛋白液RD和漂洗液RW瓶中加入指定量无水乙醇，并做好标记。

（2）裂解液SG1和SG2在使用前请加入β-巯基乙醇至终浓度为5%，如1 ml裂解液SG1加50 µl β-巯基乙醇。加入β-巯基乙醇的裂解液SG1在4℃可保存1个月，如出现沉淀，请加热溶解后使用。

**■ 预防RNase污染：**

（1）全程佩戴一次性手套，经常更换新手套。皮肤经常带有细菌和霉菌，可能污染RNA的抽提并成为RNA酶的来源。

（2）使用无RNA酶的非一次性的玻璃器皿或塑料器皿。玻璃器皿可以在150℃的烘箱中烘烤4 h，塑料器皿可以在0.5 M NaOH中浸泡10 min，用水彻底漂洗干净后高压灭菌备用。

**■ 操作步骤：**

1. 匀浆处理：取50-100 mg植物组织在液氮中迅速研磨成粉末，加入500 µl SG1（使用前请先检查是否已加入β-巯基乙醇），立即涡旋剧烈震荡混匀，室温静置5 min。

**注意1：对于预期RNA得率小于10 µg的植物样本，请使用100 mg的起始样本量；对于富含淀粉的样本或成熟叶片，请将裂解液SG1用量增加至700 µl。**

**注意2：由于植物多样性非常丰富，当使用SG1提取效果不佳时，可以使用裂解液SG2代替裂解液SG1。**

1. 将所有溶液转移至过滤柱RF上(过滤柱RF放在收集管中)，12,000 rpm离心2 min，小心吸取收集管中的上清至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。

**注意：由于裂解液较粘稠，所以将溶液转移至过滤柱时，可以剪去部分吸头末端。**

1. 取上清于新的 RNase-Free 离心管中，缓慢加入0.4倍无水乙醇，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R1中，12,000 rpm离心20 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱R1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。**

1. 向吸附柱R1中加入350 µl去蛋白液RD（**使用前请先检查是否已加入乙醇**），12,000 rpm离心20 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱R1放回收集管中。
2. DNase I工作液的配制：往新的 RNase-Free 离心管中分别加入20 µl DNase I，8 µl 10×DNase I Buffer 和52 µl RNase-Free Water，轻柔混匀。
3. 向吸附柱R1中央加入80 µl的DNase I工作液，室温放置15 min。
4. 向吸附柱R1中加入350 µl去蛋白液RD，12,000 rpm离心20 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
5. 向吸附柱R1中加入500 µl漂洗液RW（**使用前请先检查是否已加入乙醇**），室温放置2 min，12,000rpm离心20 sec，倒掉废液，将吸附柱R1放回收集管中。
6. 重复操作步骤8。
7. 12,000 rpm空柱离心2 min，将吸附柱R1放入一个新的 RNase-Free 离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加30-50 µl RNase-Free Water，室温放置2 min，12,000 rpm离心2 min，得到RNA溶液。
**注意：洗脱缓冲液体积不应少于30 µl，体积过小影响回收效率。RNA样品请在-70℃中保存。如果预期RNA得率大于30 µg，可将步骤10中离心得到的RNA溶液再加入吸附柱R1中，室温放置2 min，12,000 rpm离心2 min，得到RNA溶液。**