**多糖多酚植物总RNA提取试剂盒**

**（磁珠法）**

**货号：KTSM2911**

**■ 产品简介：**

本试剂盒采用高特异磁珠吸附RNA，配备独特的缓冲液体系，能够有效裂解富含多糖多酚类植物细胞组织，溶液中含能够有效去除多酚多糖的成分，从细胞中分离纯化高质量的基因组RNA。高特异性磁珠在一定条件下对核酸具有很强的亲和力，改变缓冲液体系，能够使磁珠释放核酸，达到快速高效分离纯化核酸的效果。

整个提取过程中不涉及苯酚、氯仿等有机试剂，安全高效。提取的RNA纯度高，无蛋白和DNA污染。

**■ 主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2911（50次）** |
| 裂解液SG | 30 ml |
| 缓冲液KG | 30 ml |
| 洗涤液A | 24 ml |
| 洗涤液B | 12 ml |
| RNase-Free-Water | 15 ml |
| DNaseⅠ | 1 ml |
| 10 × DNaseⅠ buffer | 500 µl |
| 磁珠BB | 1 ml |

**■ 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洗涤液A和洗涤液B瓶中加入指定量无水乙醇，并做好标记。

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

（3）为防止RNA降解，所有离心步骤如未加说明，均在4℃低温进行。

（4）裂解液SG和缓冲液KG中含有刺激性有害化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。

**■ 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。培养良好的微生物实验操作习惯预防微生物污染。

（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°C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:50-100 mg植物组织在液氮中迅速研磨成粉末，加入500 µl SG（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 5min。
**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SG用量增加至700 µl。
注意2：由于植物多样性非常丰富，而且同种植物的不同生长发育阶段和不同组织的RNA含量都不相同，请根据具体实验情况选择合适的植物材料的用量。**2. 12,000 rpm离心2 min，小心吸取上清至新的 RNase-Free 的离心管中，吸头尽量避免接触管低的细胞碎片沉淀。
3. 加入等体积的缓冲液KG，颠倒混匀20 sec，12,000 rpm离心10 min。
4. 取上清于新的 RNase-Free 离心管中，加入等体积的异丙醇和20 µl磁珠BB，涡旋振荡5 min。
5. 将离心管放在磁力架上磁吸30 sec，弃上清。
6. 加入500 µl洗涤液A(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，颠倒震荡5~10次，然后磁吸弃上清。
**注意：每次加入洗涤液后，盖紧离心管后需轻弹管壁，使磁珠从管壁上脱落分散在洗涤液中。**7. 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×DNaseI Buffer 和52 µl RNase-free Water，轻柔混匀。
8. 向离心管加入80 µl的DNase I 工作液，轻弹管壁，使磁珠与溶液混合，室温放置15 min。
9. 加入500 µl洗涤液A，颠倒震荡5~10次，然后磁吸弃上清。
10. 加入500 µl洗涤液B (**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**)，颠倒混匀5~10次，然后磁吸弃上清。
11. 重复步骤10。
12. 将离心管放置室温干燥5~10 min。
13. 加入50~100 µl RNase-free Water，缓慢颠倒混匀，56℃水浴5 min，期间轻摇离心管混匀，然后磁吸分离，小心吸取上清液至新的离心管中，该液体即为提取的植物总RNA溶液。