

水稻胚乳(种子)RNA 的抽提

陈香嵩, 程赛凤, 王文韬, 周少立, 赵毓*

作物遗传改良国家重点实验室, 华中农业大学, 武汉

*通讯作者邮箱: zhaoyu@mail.hzau.edu.cn

引用格式: 陈香嵩, 程赛凤, 王文韬, 周少立, 赵毓. (2018). 水稻胚乳(种子)RNA 的抽提. *Bio-101* e1010113. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010113.

实验原理: 与叶片组织相比, 水稻胚乳(种子)含有大量的淀粉, 故抽提 RNA 时主要注意除去淀粉且防止 RNA 被淀粉粒包裹后一同沉降, 抽提缓冲液的高浓度盐离子有助于达到这一目的。

关键词: 胚乳, RNA, 抽提

材料与试剂

1. RNase free 离心管
2. RNase free 枪头
3. 水稻种子
4. 液氮
5. 无水乙醇
6. 苯酚 (上海生工分装进口试剂, Tris-HCl 饱和, pH 7.9)
7. 氯仿 (国药集团)
8. NaAC (Sigma, catalog number: 25022)
9. 尿素 (Sigma, catalog number: U1250)
10. 盐酸胍 (Sigma, catalog number: G4505)
11. EDTA (Sigma, catalog number: E5134)
12. HEPES (pH 7.0) (Sigma, catalog number: H7006)
13. 抽提缓冲液 (见溶液配方)
14. 3 M NaAC (pH 5.2) (见溶液配方)

仪器设备

1. 冷冻离心机
2. 振荡器
3. 超净工作台

实验步骤

1. 在 RNase free 的离心管中加入 600 μ l 抽提缓冲液，放在冰上预冷。
2. 将胚乳放在液氮中研磨成粉末，取适量加入到抽提缓冲液中 (视频 1)。
3. 剧烈振荡 (同抽提普通组织 RNA，非振荡器上混匀) 10 秒 (视频 1)。
4. 快速加入 400 μ l 苯酚和 200 μ l 氯仿，剧烈振荡 (同抽提普通组织 RNA，非振荡器上混匀) 后放在冰上 10-30 分钟 (视频 1)。



视频 1. 水稻胚乳样品研磨及 RNA 的抽提

5. 12,000 rpm 冷冻离心 30 分钟。
6. 转移上清至新的离心管中，加入等体积的无水乙醇，混匀后置于-20 度 1-2 小时。
7. 12,000 rpm 冷冻离心 15 分钟。
8. 弃上清，用 75%乙醇洗涤后超净台吹干，加入 500 μ l DEPC 水溶解。
9. 加入 250 μ l 苯酚混匀后再加入 250 μ l 氯仿，剧烈振荡。
10. 12,000 rpm 冷冻离心 20 分钟。
11. 转移上清 (400 μ l 左右) 至新的离心管，加入 1/10 体积的 3 M NaAC(pH 5.2)和 2 倍体积的无水乙醇，-20 度放置 1 小时以上 (或者-70 度 30 分钟以上)。

12. 12,000 rpm 冷冻离心 20 分钟，75%乙醇洗涤后超净台吹干，加入适量 DEPC 水溶解。

溶液配方

1. 抽提缓冲液

配方	100 ml 用量
4 M 尿素	24 g (Sigma)
4 M 盐酸胍	38.21 g (Sigma)
3 mM EDTA	600 μ l 0.5 M (固体配制, Sigma)
10 mM HEPES(pH7.0)	1 ml 1 M (固体配制, Sigma)

2. 3 M NaAC (pH 5.2)

固体配制，用冰醋酸调节pH至5.2

注意事项

操作要求与普通 RNA 抽提相同。该方法改造自 Yang *et al.* (2006)中马铃薯 RNA 的抽提方法。

参考文献

1. Yang, J. W., Song, B. T., Li, Y. J. and Liu, J. (2006). [A simple and efficient method for RNA extraction from potato tuber.](#) *Journal of Agricultural Biotechnology* 14: 297-298.