



OminiPlant RNA Kit (DNase I)

全能型植物RNA提取试剂盒 (DNase I)

目录号：CW2598S (50 preps)

储存条件：DNase I及10×Reaction Buffer -20°C保存，其它组分室温（15-30°C）。

产品内容

Component	CW2598S 50 preps
DNase I	1000 U
10×Reaction Buffer	1000 μL
Buffer RLS	40 mL
Buffer RW1	40 mL
Buffer RW2 (concentrate)	11 mL
RNase-Free Water	10 mL
Spin Columns FS with Collection Tubes	50
Spin Columns RM with Collection Tubes	50
RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 mL)	50

产品简介

本试剂盒适用于从多种植物中提取 RNA, 即便是从多糖多酚含量丰富的植物中也能成功提取高质量的 RNA, 如水稻叶片、小麦叶片、玉米叶片、烟草叶、松针、银杏叶、杨树叶、石榴叶、冬青叶、苹果、桃、梨、西红柿、樱桃、杏、香蕉、葡萄、枇杷、桂圆果皮、桂圆果肉、荔枝果皮、荔枝果肉、大豆、花生、玉米、马铃薯块茎、月季花瓣、石榴花瓣, 香菇、平菇等样本。独特的裂解液配方, 可使细胞中的RNA酶迅速灭活, 有效去除多糖多酚对RNA提取的影响, 无需苯酚、氯仿等试剂, 同时采用硅基质膜吸附RNA进行纯化, 提取的总RNA纯度高, 无基因组、蛋白质和其它杂质的污染, 可用于 Real Time RT-PCR、RT-PCR、Northern Blot、Dot Blot、和体外翻译等多种下游实验。

RNA得率

植物样本 (100mg)	总RNA量 (μg)
拟南芥荚果	~50
大豆	~55
玉米叶片	~55

自备试剂

β-巯基乙醇、无水乙醇 (新开封或提取RNA专用)

实验前准备及重要注意事项

1. 预防 RNase 污染, 应注意以下几方面:
 - 1) 使用无 RNase 的塑料制品和枪头。
 - 2) 操作人员戴一次性口罩和手套, 实验过程中要勤换手套。
2. 提取的样品避免反复冻融, 否则影响RNA提取得率和质量。
3. Buffer RLS 如果产生沉淀, 请加热使其溶解后室温放置。
4. Buffer RLS 在使用前请加入 β-巯基乙醇, 1mL Buffer RLS加20μL β-巯基乙醇。加入β-巯基乙醇的 Buffer RLS 室温可保存 1 个月。
5. 第一次使用 Buffer RW2 前应按照试剂瓶标签的说明加入无水乙醇。

操作步骤

1. 匀浆处理: 取 50-100mg 植物组织在液氮中迅速研磨成粉末, 加入 500 μ L Buffer RLS (使用前请先检查是否加入 β -巯基乙醇), 立即涡旋剧烈震荡混匀。
注意: 对于含水量极其丰富的材料, 如西瓜果肉, 西红柿, 梨果肉等, 可以适当多加入些材料, 最多可增加至 200mg; 对于富含淀粉的样本或成熟叶片, 可适当增加 Buffer RLS 的用量, 最多可增加至 700 μ L。
2. 4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟。
3. 将上清液转入已装入收集管的过滤柱 (Spin Columns FS) 中, 4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm离心 1 分钟, 小心吸取收集管中的上清并转移至新的RNase-Free 离心管 (自备) 中, 枪头尽量避免接触收集管中的细胞碎片沉淀。
4. 缓慢加入 0.5 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已装入收集管的 吸附柱 (Spin Columns RM) 中, 若一次不能将全部溶液加入吸附柱中, 请分两次转入。4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm 离心 1 分钟, 弃废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
5. 向吸附柱RM中加入350 μ L Buffer RW1, 4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm离心 1 分钟, 弃废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
6. 配制 DNase I 混合液: 取 52 μ L RNase-Free Water, 向其中加入 8 μ L 10 \times Reaction Buffer 和 20 μ L DNase I (1 U/ μ L), 混匀, 配制成终体积为 80 μ L 的反应液。
7. 向吸附柱中直接加入80 μ L DNase I 混合液, 20-30 $^{\circ}$ C孵育 15 分钟。
8. 向吸附柱RM中加入350 μ L Buffer RW1, 4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm离心 1 分钟, 弃废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
9. 向吸附柱RM中加入500 μ L Buffer RW2 (使用前检查是否加入无水乙醇), 4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm离心 1 分钟, 弃废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
10. 重复步骤9。
11. 4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm离心 2 分钟。
注意: 这一步的目的是将吸附柱中残余乙醇去除, 乙醇残留会影响后续的酶促反应(酶切、PCR等)。
12. 将吸附柱RM装入新的 RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5 mL) 中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 30-50 μ L RNase-Free Water, 室温放置 2 分钟, 4 $^{\circ}$ C 12,000 rpm离心 1 分钟, 得到的RNA溶液保存在 -70 $^{\circ}$ C, 防止降解。
注意: 1) RNase-Free Water体积不应小于 30 μ L, 体积过小影响回收率。
2) 如果要提高 RNA 的产量, 可用 30-50 μ L 新的RNase-Free Water重复步骤 12。
3) 如果要提高 RNA 浓度, 可将得到的溶液重新加入到吸附柱中, 重复步骤 12。