



OminiPlant RNA Kit (DNase I)

全能型植物RNA提取试剂盒 (DNase I)

目录号：CW2598S (50 preps)

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

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)
拟南芥莢果	~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，1 ml Buffer RLS加20 µl 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°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°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°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°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°C孵育15分钟。
8. 向吸附柱RM中加入350 μ l Buffer RW1，4°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°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°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°C 12,000 rpm离心1分钟，得到的RNA溶液保存在-70°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。**

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途