

OminiPlant RNA Kit (DNase I) 全能型植物RNA提取试剂盒 (DNase I)

项目号: 0665690

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	0665690-50T
DNase I	1000U
10×Reaction Buffer	1000 μl
Buffer RLS	40ml
Buffer RW1	40ml
Buffer RW2 (concentrate)	11ml
RNase-Free Water	10ml
Spin Columns FS with Collection Tubes	50
Spin Columns RM with Collection Tubes	50
RNase-Free Centrifuge Tubes (1.5ml)	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 μl 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 12,000rpm (~13,400×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 12,000rpm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 12,000rpm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 12,000rpm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×Reaction Buffer和20 μ l DNase I (1U/ 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 12,000rpm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 12,000rpm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 12,000rpm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 (1.5ml) 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 12,000rpm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。