

版本号: FRH1719

## pTRizol Plant Reagent

### pTRizol 植物 RNA 分离试剂

目录号:FR301

#### 产品内容:

目录号	产品组成
FR301	95 ml

#### 储存条件:

室温(15-25°C)运输并保存, 添加  $\beta$ -巯基乙醇之后可 4°C 保存 6 个月。

#### 产品简介:

pTRizol 植物 RNA 分离试剂可从植物组织, 特别是富含多酚或淀粉的植物组织 (如马铃薯块茎, 白松松针, 吊兰叶片, 山药, 香蕉, 苹果, 木瓜, 梨等) 中提取高纯度的总 RNA。每 100 ml (加入  $\beta$ -巯基乙醇后的终体积) 可处理 100 mg 组织 200 次, 处理 5 g 组织 4 次。

#### 准备试剂:

$\beta$ -巯基乙醇, 液氮, 研钵, 无 RNase 离心管, 氯仿, 异丙醇, 75%乙醇, RNase Free ddH<sub>2</sub>O。

#### 样品处理:

1. 准备新鲜植物组织, 在液氮中研磨成粉状, 如果是干种子, 可在室温研磨。
2. 处理过的植物材料应一直保持冷冻保存, 直至加入提取试剂并悬浮。
3. 先将无 RNase 离心管置于干冰中再放入研磨好的冷冻的组织样品。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

---

### 预防 RNase 污染，应注意以下几方面：

1. 经常更换新手套。因为皮肤经常带有细菌，可能导致 RNase 污染。
2. 使用 RNase Free 的塑料制品和枪头避免交叉污染。
3. RNA 在 pTRIzol Plant Reagent 中时不会被 RNase 污染。但提取后继续处理过程中应使用不含 RNase 的塑料和玻璃器皿。玻璃器皿可在 150°C 烘烤 4h，塑料器皿可在 0.5 M NaOH 中浸泡 10 min，然后用水彻底清洗，再灭菌，即可去除 RNase。

### 小量提取操作步骤：（样品 < 0.1 g，使用小量提取方法）

**注意：**pTRIzol Plant Reagent 会出现白色沉淀，使用前需在 60°C 加热溶解后摇匀使用。使用前请先在 pTRIzol Plant Reagent 加入  $\beta$ -巯基乙醇至终浓度 5%。本试剂体积为 95 ml，可加入 5 ml  $\beta$ -巯基乙醇后摇匀使用。

1. 取不多于 0.1 g 冷冻研磨过的植物组织，加 0.5 ml pTRIzol Plant Reagent(4°C)，振荡至彻底混匀。

2. 室温放置 5 min。

**注意：**平放离心管，使表面积最大。

3. 4°C 12,000 rpm 离心 1 min，将上清转入新的无 RNase 离心管。
4. 加入 0.3 ml 氯仿，上下颠倒混匀。
5. 4°C 12,000 rpm 离心 10 min，取上层水相转入新的无 RNase 离心管。

**注意：**若提取富含多酚或淀粉的植物组织，可重复步骤 5、6 一次。

6. 加入与所得水相等体积的异丙醇，混匀，室温放置 10 min。
7. 4°C 12,000 rpm 离心 10 min。弃掉上清，注意不要倒出沉淀。加 1 ml 75%乙醇。（沉淀可能很难看见，应小心操作。）
8. 4°C 5,000 rpm 离心 3 min。倒出液体，注意不要倒出沉淀。剩余的少量液体短暂离心，然后用枪头吸出，室温晾干 5-10 min。
9. 加 50-100  $\mu$ l RNase Free ddH<sub>2</sub>O，反复吹打、混匀，充分溶解 RNA。如有絮状物，可在室温条件下 12,000 rpm 离心 1 min，取上清转入干净的无 RNase 离心管中，-70°C 保存。

### 大量提取操作步骤（样品 > 0.1 g 到 5 g，使用大量提取方法）：

**注意：**使用前在 pTRIzol Plant Reagent 加入  $\beta$ -巯基乙醇至终浓度 5%。

1. 每 1 g 冷冻的研磨过的植物组织，加 5 ml pTRIzol Plant Reagent，振荡至彻底混匀。

- 
2. 室温放置 5 min。注意：平放离心管，使表面积最大。
  3. 4°C 10,000 rpm 离心 1 min，上清转入新的无 RNase 离心管。
  4. 每 10 ml 上清加 6 ml 氯仿，上下颠倒混匀。
  5. 4°C 10,000 rpm 离心 15 min，取上层水相转入新的无 RNase 离心管。  
**注意：若提取富含多酚或淀粉的植物组织，可重复步骤 5、6 一次。**
  6. 测量所得水相体积，加 0.9 倍体积异丙醇，混匀，室温放置 10 min。
  7. 4°C 10,000 rpm 离心 15 min。弃掉上清，注意不要倒出沉淀。加 5–10 ml 75%乙醇。
  8. 4°C 5,000 rpm 离心 5 min。小心倒出液体，注意不要倒出沉淀。剩余的少量液体短暂离心，然后用枪头吸出，室温晾干 5-10 min。
  9. 加 RNase Free ddH<sub>2</sub>O，反复吹打、混匀，充分溶解 RNA（例如每 1 g 叶片可用 200 μl RNase Free ddH<sub>2</sub>O 溶解）。如有絮状物，可将 RNA 溶液转移至 1.5 ml 无 RNase 离心管中
  10. 室温 12,000 rpm 离心 1 min，取上清转入干净的无 RNase 离心管中，-70°C 保存。