



(DP421) TRNzol-A+总RNA

提取试剂操作指南

——植物

天根生化科技（北京）有限公司

实验准备

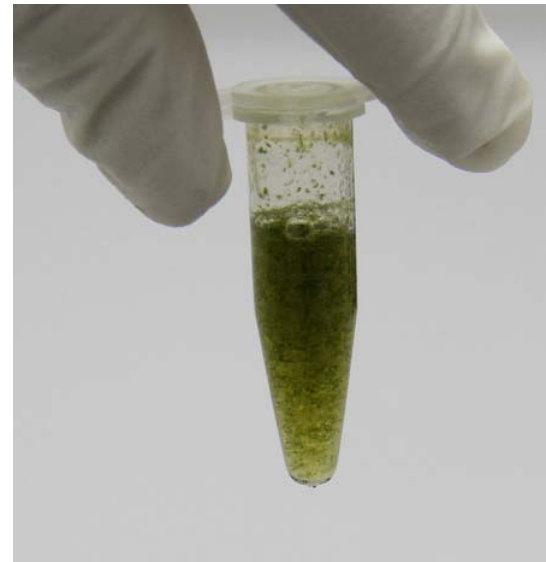
1. 植物叶片 研钵 液氮
2. 氯仿、异丙醇、RNase-Free ddH₂O、75%乙醇（使用RNase-Free ddH₂O配制）
3. 移液器及配套无菌枪头（200 μ l，1ml）
4. 涡旋振荡器
5. 台式低温离心机



Step 1



将组织在液氮中磨碎。



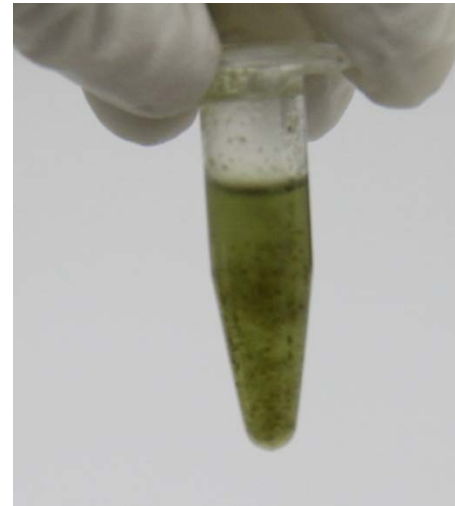
每50–100 mg组织加1 ml
TRNzol-A+并迅速混匀

注意：为保证样本不会融化降解，先准备好裂解液，然后将研磨后的样品直接加入裂解液中。样品体积不应超过裂解液RZ体积的十分之一。

Step 2



将匀浆样品在15–30°C放置5 min,
使得核酸蛋白复合物完全分离。



样品颜色会变的稍微灰暗

Step 3



可选步骤：4°C 12,000 rpm
(~13,400×g) 离心5 min，取上清，
转入一个新的无RNase的离心管中。

注意：如果样品中含有较多蛋白、脂肪、多糖或植物结节部分等，可加此步骤离心去除。
离心得到的沉淀中包括细胞外膜、多糖、高分子量DNA，RNA存在于上清溶液中。

Step 4



加入200 μ l氯仿，盖好管盖，剧烈振荡15 sec，室温放置3 min 。

Step 5



4°C 12,000 rpm (~13,400×g) 离心10 min,



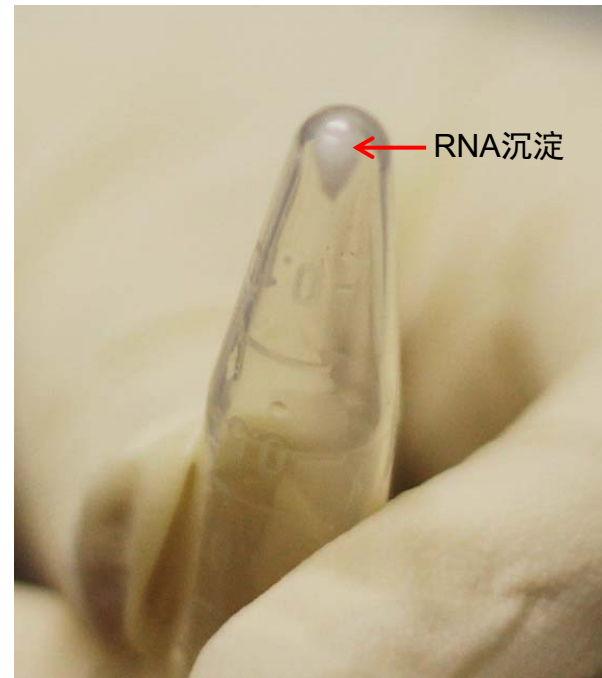
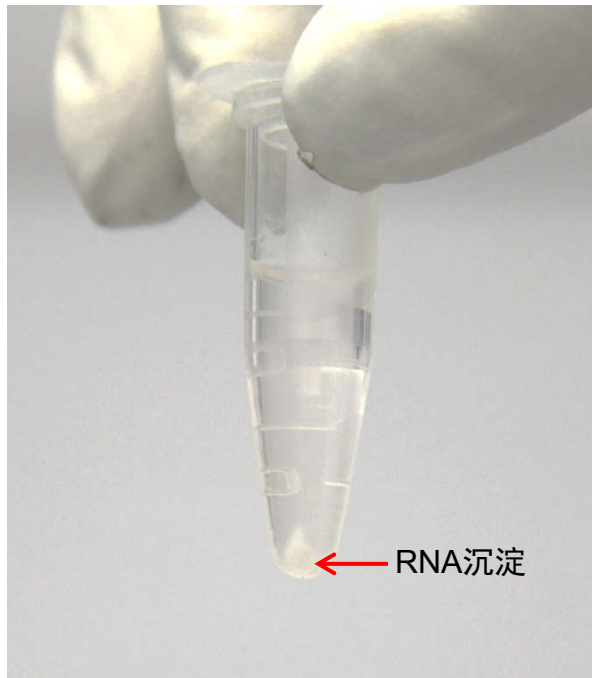
把水相转移到新管中，进行下一步操作。
水相的体积约为所用裂解液RZ试剂的50%

Step 6



在得到的水相溶液中加入等体积异丙醇，混匀，室温放置20-30 min。

Step 7



4°C 12,000 rpm (~13,400 × g) 离心 10 min, 去上清。离心前 RNA 沉淀经常是看不见的, 离心后在管侧和管底形成胶状沉淀。

Step 8



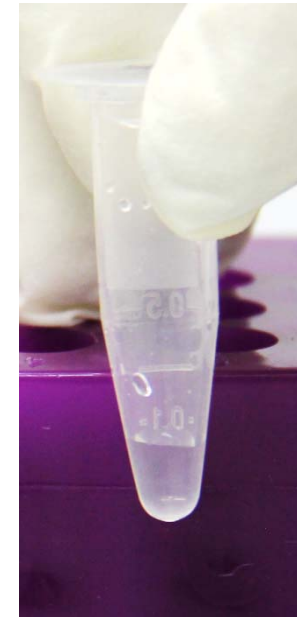
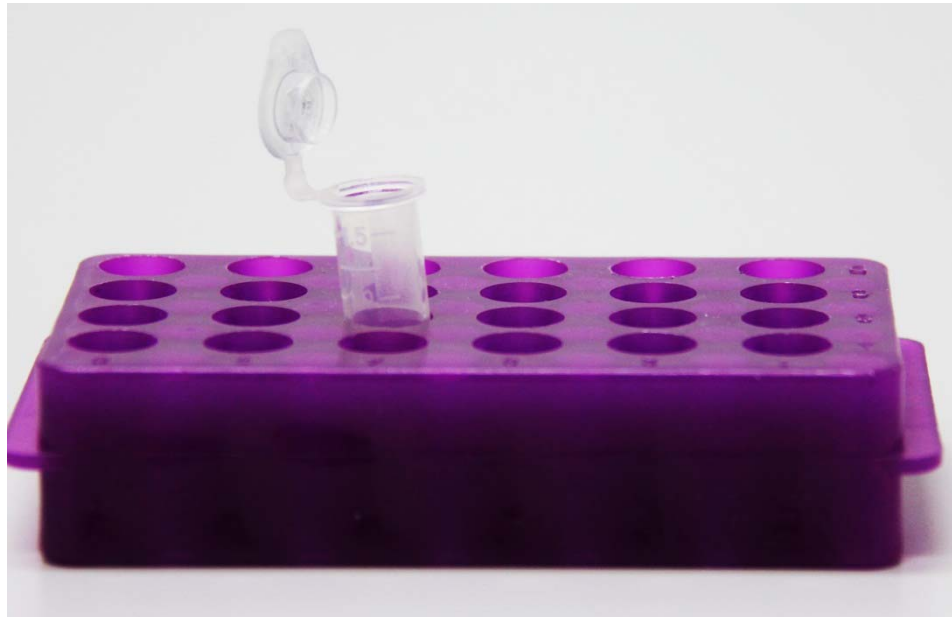
加入1 ml 75%乙醇（用RNase-free ddH₂O配制）洗涤沉淀。每使用1 ml TRNzol-A+至少用1 ml 75%乙醇对沉淀进行洗涤。

Step 9



4°C 5,000 rpm($\sim 2,300 \times g$)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，注意不要吸弃沉淀。

Step 10



室温放置晾干（不要晾的过干，RNA完全干燥后会很难溶解，大约晾干2—3 min左右即可），根据实验需要，加入30-100 μ l RNase-Free ddH₂O，反复吹打、混匀，充分溶解RNA。