

快速的总 RNA 提取技术

简介

自从 DNA 双螺旋结构发现以来，核酸就成为了生物学的研究重点，并产生了以 DNA 和 RNA 为主要研究对象的分子生物学学科。从样品中分离出高纯度高质量的核酸是下游实验顺利进行的最基本前提。在遗传法则中，生物个体的基因组 DNA 通过转录成 RNA，再通过 RNA 翻译成蛋白质来实现整个生命过程。一个生命个体只有一份基因组，不同的组织细胞中其基因组 DNA 是一致的，但是转录的 RNA 和其翻译的蛋白质千差万别，构成复杂的生命现象。RNA，特别是 mRNA 作为中间体，有着相当重要的作用，是研究复杂生命现象，病因病理，诊断治疗，基因功能研究的直接对象。目前 RNA 的相关研究已经成为分子生物学中最为主要，最为活泼的项目。从生物样品中分离高纯度高质量的总 RNA 是这些研究项目最为基础的工作。“万丈高楼平地起”，“千里之堤溃于蚁穴”。严格控制 RNA 的质量是下游应用的最为主要的质控。目前，有许多商品化的试剂盒或方法可用于 RNA 的分离，其中最为普遍的方法是 Trizol。这种方法虽然能获得质量良好的 RNA，但需要使用酚氯仿抽提和异丙醇沉淀，整个过程需要耗时达 1 小时。处理富含蛋白质的样品如肝脏，脑等样品时，纯度也比较低(<1.7)。这种对环境危害大，对操作不友好的产品已经越来越难满足科研的需求。Magen 公司 HiPure Total RNA System 采用硅胶柱纯化方式，可快速地从培养细胞，动物组织，细菌中快速提取高质量高纯度的总 RNA。该产品还结合了独特 DNA 过滤技术 (gDNA Remove Column) 去除 DNA 污染。gDNA Remove Column 可高效去除基因组 DNA 污染。整个过程无需接触酚氯仿，也无需用到异丙醇沉淀。20 分钟内就可完成多个样品的抽提工作，处理 96 个样品时只需 2 小时。该系列产品是目前 RNA 抽提最为快速和简单的产品。该系列包括有：

产品	组织量	细胞量	产品编号
Total RNA Micro Kit	<5mg	< 5x10 ⁵	R4114
Total RNA Mini Kit	<20mg	<1x10 ⁷	R4111
Total RNA Midi Kit	<200mg	<1 x 10 ⁸	R4112
Total RNA Maxi Kit	<1g	<5 x 10 ⁸	R4113
Total RNA 96 Kit	<10mg	<1 x 10 ⁸	R4116

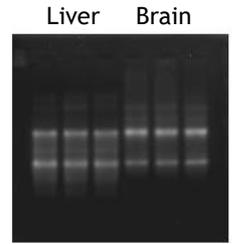
● 与 Trizol 的性能比较

	Trizol Reagent	HiPure Total RNA Kit
毒性	酚氯仿抽提，毒性大	安全，无毒试剂
操作时间	约 1 小时	< 20 分钟
纯度	OD260/280=1.6-2.0 OD260/230=1.1-1.8	OD260/280=1.9-2.0 OD260/230=1.8-2.5
操作要求	高	低
稳定性	一般	好
DNA 污染情况	高	低
DNA 去除方式	酚氯仿抽提	过滤去除
还需另配试剂	氯仿，异丙醇，70%乙醇	无水乙醇，70%乙醇

实验结果

1. 从富含蛋白质/脂类样品中提取高纯度的总 RNA

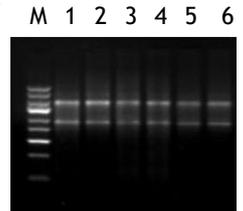
取 10mg 富含蛋白质样品(鸡肝)和富含脂类和糖类样品(鸡脑)，用 HiPure Total RNA Kit 进行提取，提取后用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳分析(结果如右)和 NaNodrop 2000 进行分析(结果以下)。结果表明，使用该产品得到的 RNA 片段完整不降解，纯度和得率都很高，从电泳图来看，纯化的 RNA 无 DNA 污染。



样品	浓度µg/µl	260/280	260/230	Yield µg
10mg 鸡肝	0.2273	2.12	1.96	45.46
	0.2412	2.11	2.23	48.24
	0.2351	2.11	1.75	47.02
10mg 鸡脑	0.0445	2.15	2.15	4.45
	0.0429	2.18	1.95	4.29
	0.0455	2.13	1.9	4.55

2. 从培养细胞中快速提取高纯度的总 RNA

取 5 x 10⁶ 个培养细胞，按试剂盒进行抽提，抽提后电泳和测量分析，并计算整个抽提时间。总 RNA 的电泳结果如图所示，由图可知，总 RNA 条带清晰，完整性好。由 OD 可知，该试剂盒得到的细胞产量和纯度都非常好。处理 6 个培养细胞样品总时间为 25 分钟。



Sample	Conc. µg/µl	260/280	260/230	Yield µg	操作时间
1	0.2273	2.12	1.96	45.46	6 个样品的抽提时间为 30 分钟
2	0.2412	2.11	2.23	48.24	
3	0.2351	2.11	1.75	47.02	
4	0.0445	2.15	2.15	4.45	
5	0.0429	2.18	1.95	4.29	
6	0.0455	2.13	1.9	4.55	