

RNAeasy™动物小RNA抽提试剂盒(离心柱式)

产品编号	产品名称	包装
R0028	RNAeasy™动物小RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次

产品简介:

- 碧云天的离心柱式RNAeasy™小RNA抽提试剂盒(RNAeasy™ Small RNA Isolation Kit with Spin Column), 也称离心柱式miRNA抽提试剂盒(miRNA Isolation Kit with Spin Column), 是一种基于离心柱法从动物组织或培养的动物细胞中安全、快速、便捷、稳定、高效、高质量地抽提miRNA等小于200个核苷酸(nucleotide, nt)的小RNA(small RNA)的试剂盒。
- 本试剂盒抽提得到的小RNA可用于反转录、RT-PCR、qPCR、Northern等常规实验, 也可以用于基因芯片分析(microarray)、高通量测序(high throughput sequencing)等对小RNA质量要求较高的情况。
- 碧云天的三款离心柱式及Trizol法RNA抽提试剂盒的主要特点和差异如下:

产品编号	R0024/ R0026/ R0027	R0028	R0032	R0011/R0016
产品名称	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒	RNAeasy™动物小RNA抽提试剂盒	RNAeasy™ Plus动物RNA抽提试剂盒	Beyozol Trizol
推荐指数	★★★★★	★★★★★	★★★	★★
抽提方式	离心柱式	离心柱式	离心柱式	原始方式
抽提产物	RNA(>200nt)	小RNA(<200nt)	总RNA (含<200nt的小RNA)	总RNA (含<200nt的小RNA)
操作时间	最短(15-20分钟)	稍较长(20-25分钟)	较长(25-30分钟)	最长(45-60分钟)
操作步骤	4步骤(少)	6步骤(多)	6步骤(多)	很多步骤
使用便捷性	★★★★★	★★★★	★★★★	★★
推荐细胞量/得率	50-100万/5-20μg	50万/1-2μg	50-100万/5-20μg	50-100万/5-20μg
推荐组织量/得率	5-20mg/10-40μg (多)	5mg/1-1.5μg (少)	3-5mg/3-10μg (少)	50mg/100-500μg (很多)
RNA纯度	高	高	高	高
有毒有害试剂	无	无	无	有
人体与环境安全	高	高	高	低
国外同类产品	RNeasy Mini Kit (Qiagen) PureLink® RNA Mini Kit (Thermo)	PureLink® miRNA Isolation Kit (Thermo)	miRNeasy Mini Kit (Qiagen)	TRIzol (Thermo)
用途	非小RNA相关各种用途	小RNA相关各种用途	不同长度RNA各种用途	不同长度RNA各种用途

- 动物组织或细胞中的RNA按照长度可以分为长链RNA(long RNA)和小RNA(small RNA), 长链RNA通常大于200nt(也常被称为总RNA), 而小RNA通常小于200nt。长链RNA按照是否编码蛋白或多肽可以分为长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)和mRNA。小RNA主要包括非编码的5.8S rRNA(ribosomal RNA)、5S rRNA、tRNA(transfer RNA)、microRNA(miRNA)、siRNA(small interfering RNA)、piRNA(Piwi-associated small RNA)、tsRNA(tRNA-derived small RNA)、srRNA(small rDNA-derived RNA)等。
- 本试剂盒抽提小RNA的基本流程如图1所示。样品在裂解液中迅速裂解, 释放出总RNA, 然后在两次高速离心过程中, 通过离心柱将不同大小的RNA分离。第一次过柱时, 200nt以上的RNA特异性结合到纯化柱上, 而200nt以下的小RNA穿柱而过被收集到液体收集管中; 第二次过柱时, 特定的结合体系使小RNA结合到另一个纯化柱上。然后通过2次洗涤充分去除非特异性结合的蛋白、盐等杂质, 最后用洗脱液将高纯度的小RNA洗脱下来。

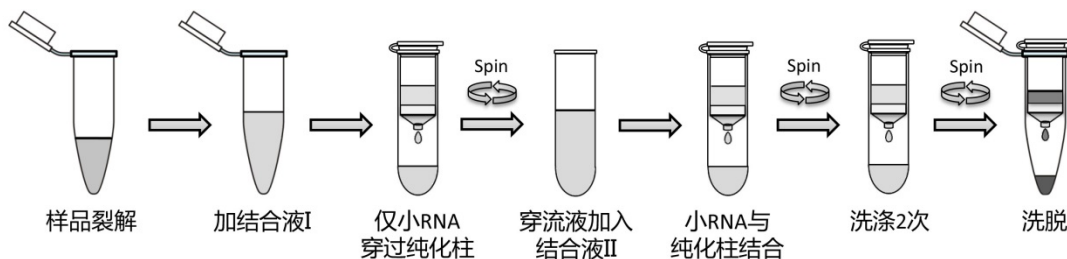


图1. 离心柱式小RNA抽提流程示意图

- **本试剂盒使用安全。**本试剂盒通过特殊的柱纯化介质进行小RNA分离纯化，不仅能有效避免传统的Trizol法抽提时使用的酚、氯仿等有毒有害有机试剂，也能有效避免如国外知名的Q品牌等公司使用类似于Trizol的裂解液裂解样品、接着使用氯仿分层、后续再进行柱纯化等涉及的有毒有害有机试剂。
- **本试剂盒使用快速、便捷。**本试剂盒采用柱纯化，无需繁琐的RNA沉淀步骤，抽提操作过程仅20-25分钟。相比于传统的Trizol抽提法，本试剂盒能够有效去除大分子RNA，操作流程显著简化，缩短了抽提时间，降低了RNA降解的风险。和国外同类柱纯化产品相比，所需操作步骤和操作时间基本一致。
- **本试剂盒抽提获得的小分子量RNA得率高、纯度好。**100万培养动物细胞约能抽提得到1-2 μ g小RNA，5mg小鼠肝脏组织约能抽提得到1-1.5 μ g小RNA。A260/A280通常为2.0-2.2。本试剂盒与国际知名T品牌同类产品的抽提效果对比图参见图2。

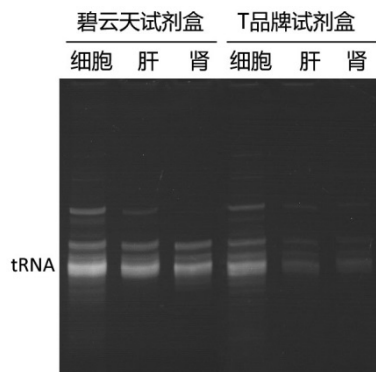


图2. 本试剂盒与T品牌同类产品的小RNA抽提效果对比。样品为冻存的100万个HeLa细胞、5mg小鼠肝组织和5mg小鼠肾组织。洗脱液用量均为30 μ l。均取6 μ l洗脱的样品经变性处理后，在含7M尿素的15% TBE-PAGE中电泳约90分钟后在NA-Red溶液中染色后拍照。碧云天试剂盒抽提产物的A260/A280依次为2.01、2.07和2.06；T品牌试剂盒抽提产物的A260/A280依次为1.93、1.79和1.29。实际抽提效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，本图仅供参考。

- 本试剂盒用于抽提18-200 nt小RNA，主要包括5.8S rRNA、5S rRNA、tRNA、microRNA (miRNA)，以及short interfering RNA (siRNA)、piRNA、tsRNA等，能够有效去除基因组DNA和200nt以上的RNA，如28S rRNA、18S rRNA、mRNA等。
- 本试剂盒适用于新鲜或冻存的动物组织或细胞样品小RNA的抽提。样品的用量对抽提效果影响较大，样品用量过多会导致在第一次过柱时不能最大程度去除200nt以上的RNA，通常建议培养细胞的用量不超过100万，动物组织的用量不超过5mg。
- 本试剂盒可用于50个样品的小RNA抽提。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
R0028-1	裂解液	16ml
R0028-2	结合液I	16ml
R0028-3	结合液II	38ml
R0028-4	洗涤液	63ml
R0028-5	洗脱液	5ml
R0028-6	RNA纯化柱及废液收集管	100套
R0028-7	RNA洗脱管	50个
—	说明书	1份

保存条件：

室温保存，一年有效。

注意事项：

- 对于富含RNase的样品(如动物组织)，建议使用前在裂解液中添加二硫苏糖醇(Dithiothreitol, DTT)至终浓度为40mM (例如1ml裂解液中加入20 μ l 2M DTT)或 β -巯基乙醇至终浓度为1% (如1ml裂解液中加入10 μ l β -巯基乙醇)，含DTT或 β -巯基乙醇的裂解液可在室温放置1个月。
- 本试剂盒提供的所有试剂和耗材都是RNase-free，操作时应小心，避免被污染。所有自行准备的试剂和耗材也都应是RNase-free。如果可能有RNase污染，可考虑用0.01%的DEPC水浸泡过夜，然后高温高压灭菌并烘干。操作时应避免对着样品或所使用的试剂盒耗材呼气或说话，以防RNase污染。建议戴一次性口罩操作。
- 对于操作环境中RNA酶的去除，推荐使用碧云天生产的RNase and DNase Away (R0123)以去除实验桌面上或其它接触面上的RNase。
- 使用冻存的细胞或组织抽提小RNA的效果通常比新鲜的细胞或组织差一些。因为在细胞或组织冻融过程中一些细胞或组织内的RNase会被释放出来并剪切样品中的RNA。对于组织样品，推荐使用碧云天生产的RNALater™动物组织RNA稳定保存液(R0118)进行保存以保证样品RNA的完整性。
- 本试剂盒所有操作均在室温进行，操作时无需冰浴。所有离心也均在室温进行。
- 废液收集管在一次抽提中需多次使用，切勿中途丢弃。

- 结合液 I、结合液 II 和洗涤液中含有乙醇，使用后须旋紧瓶盖以防挥发，并须按照易燃试剂的相关规范进行存放和使用。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 实验材料的准备。

细胞样品：收集50-100万左右的细胞。对于悬浮细胞，1000-2000g离心1分钟后弃上清，加入300 μ l裂解液，轻轻吹打8-10次至固悬物溶解、溶液澄清；对于贴壁细胞，吸净培养液后加入300 μ l裂解液，轻轻吹打5-10次至固悬物溶解、溶液澄清，转移至一洁净离心管内。

组织样品：取5mg动物组织，置于液氮中研磨成粉末，立即加入300 μ l裂解液。也可将组织置于1.5ml离心管中，迅速加入300 μ l裂解液，用微型电动匀浆器匀浆，或者用普通玻璃匀浆器进行匀浆。研磨或匀浆后，轻轻吹打匀浆液8-10次，室温放置3-5分钟。然后约14,000g离心2分钟，将上清液移至新的离心管中。对于比较容易裂解且匀浆很充分的组织(如肝组织、脑组织等)可以不用高速离心而直接进入步骤2。

注意：细胞的数量不超过100万，动物组织的用量不超过5mg，细胞或组织用量过多会导致大分子RNA不能去除完全。对于富含RNase的样品，裂解液中宜添加DTT至终浓度为40mM或添加 β -巯基乙醇至终浓度为1%。

2. 加入300 μ l结合液I至裂解液中，轻轻颠倒混匀3-5次。此时可能会有沉淀物产生，属于正常现象。

3. 将混合物(包括沉淀物)转移至第1个纯化柱内，12,000g离心30秒，回收收集管内液体至一新的1.5ml离心管。

注意：对于一些非常特殊的样品，如出现溶液未完全通过时，可延长离心时间至1-2分钟，或者加大离心力至16,000g。对于一些能快速启动达到12,000g的离心机，离心30秒已经足够，对于一些启动速度缓慢的离心机本步骤及后续步骤中的30秒离心宜调整为60秒。

4. 向溶液中加入700 μ l结合液II，混匀后，将混合物(包括沉淀物)分两次转移至第2个纯化柱内，每次12,000g离心30秒后倒弃收集管内液体。

注意：加入结合液II后溶液总体积超过纯化柱的容量(约750 μ l)，因此须分成2次过柱，即将一半的混合物(约650 μ l)加入纯化柱内后12000g离心30秒，倒弃收集管内液体，再将剩余的混合物加入纯化柱内12000g离心30秒，并倒弃收集管内液体。

5. 加入600 μ l洗涤液，12,000g离心30秒，倒弃收集管内液体。

6. 重复步骤5一次。

7. 最高速(约14,000-16,000g)离心2分钟，去除残留液体。

8. 将RNA纯化柱置于本试剂盒提供的RNA洗脱管中，加入30-50 μ l洗脱液，室温放置2-3分钟，最高速离心30秒，所得溶液即为纯化的small RNA。

注意：洗脱液需要加到纯化柱柱面中央，使其被完全吸收。如需获得更高浓度的样品，可把洗脱液的体积减小至20 μ l，但洗脱下来的总RNA量会相对减少。室温较低时，洗脱液在37 $^{\circ}$ C预热片刻对得率有所帮助。此外，洗脱后的溶液再次加回到原纯化柱再离心洗脱一次，可提高得率约10-30%；或者在第一次洗脱后使用新的洗脱液再洗脱一次，会获得约为第一次洗脱量10-35%的small RNA。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
R0011	Beyozol (总RNA抽提试剂)	100ml
R0016	Trizol (总RNA抽提试剂)	100ml
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
R0024	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12次
R0026	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0027	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	200次
R0028	RNAeasy™动物小RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0032	RNAeasy™ Plus动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0035	BeyoMag™磁珠法动物总RNA抽提试剂盒	50次
R0118	RNA Later™动物组织RNA稳定保存液	100ml
R0121	AllProtect™动物组织核酸、蛋白稳定保存液	25ml
R0122	AllProtect™动物组织核酸、蛋白稳定保存液	100ml
R0123	RNase and DNase Away	250ml
R0125	RNase, DNase and DNA Away	250ml
R0127	RNase, DNase, RNA and DNA Away	250ml
ST036	DEPC	10g

使用本产品的文献：

1. Wang T, Liu YP, Wang T, Xu BQ, Xu B. ROS feedback regulates the microRNA-19-targeted inhibition of the p47phox-mediated LPS-induced inflammatory response. *Biochem Biophys Res Co.* 2017 Aug 5;489(4):361-368.

Version 2019.11.13