



碧云天生物技术/Beyotime Biotechnology  
订货热线: 400-1683301或800-8283301  
订货e-mail: order@beyotime.com  
技术咨询: info@beyotime.com  
网址: http://www.beyotime.com

## RNAeasy™ Plus动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)

产品编号	产品名称	包装
R0032	RNAeasy™ Plus动物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™ Plus动物RNA抽提试剂盒(RNAeasy™ Plus Animal RNA 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、高质量地抽提总RNA的试剂盒。总RNA包括大于200个核苷酸的RNA(也常被称为总RNA)和小于200个核苷酸的小RNA (small RNA)。
- 本试剂盒抽提得到的RNA可用于反转录、RT-PCR、qPCR、Northern、点杂交(Dot Blot)、纯化mRNA、体外翻译、RNase protection assay、cDNA克隆等下游实验；也可用于基因表达芯片分析(microarray)、高通量测序(high throughput sequencing)等对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	50-100万/5-20 µg	50万/1-2 µg	50-100万/5-20 µg	50-100万/5-20 µg
推荐组织量/得率	5-20mg/10-40 µg (多)	5mg/1-1.5 µg (少)	3-5mg/3-10 µg (少)	50mg/100-500 µg (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，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(translating RNA)、microRNA(miRNA)、siRNA(small interfering RNA)、piRNA(Piwi-associated small RNA)、tsRNA(tRNA-derived small RNA)、srRNA(small rRNA-derived RNA)等。
- 本试剂盒抽提总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与小RNA，通过两次特异性结合体系过同一纯化柱，分别结合>200nt的RNA和<200nt的小RNA，同时有效避免了杂质大量析出而阻塞纯化柱，抽提得到包括>200nt的RNA和小RNA的总RNA，基因组DNA和蛋白等杂质被有效去除，然后通过洗涤去除非特异性结合的蛋白等杂质，最后用洗脱液将总RNA洗脱下来。

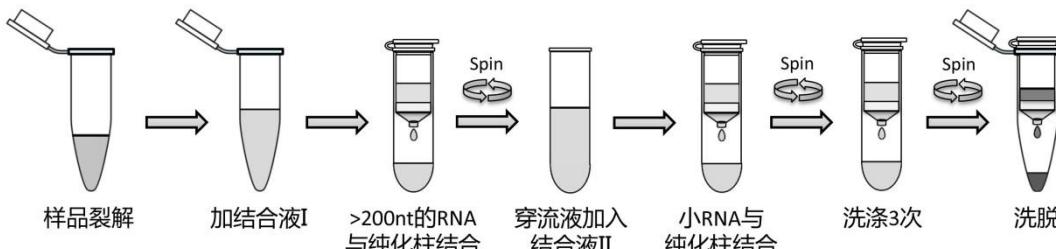


图1. 离心柱式总RNA(>200nt的RNA和<200nt的小RNA)抽提流程示意图

- **本试剂盒使用安全。**本试剂盒通过特殊的柱纯化介质进行总RNA分离纯化，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。
- **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25-30分钟。相比于传统的Trizol抽提法，本试剂盒的操作流程显著简化，缩短了抽提时间，降低了RNA降解的风险。
- **本试剂盒抽提总RNA的得率高。**本试剂盒的抽提效果经反复测试，100万个冻存的HeLa细胞能抽提得到约15-20 $\mu$ g总RNA，5mg冻存的小鼠肝组织能抽提得到约6-10 $\mu$ g总RNA，5mg冻存的小鼠肾组织能抽提得到约3-5 $\mu$ g总RNA。不同来源的样品可能有所差异，通常新鲜样品的得率高于冻存样品。本试剂盒的抽提效果参见图2。

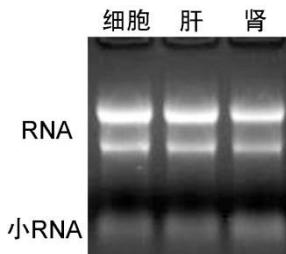


图2. 本试剂盒总RNA抽提效果。样品为冻存的50万个HeLa细胞、5mg小鼠肝组织和5mg小鼠肾组织。洗脱液用量均为40 $\mu$ l。均取6 $\mu$ l洗脱的样品经变性处理后，在含6.67%甲醛和适量NA-Red的1.2%变性琼脂糖凝胶中电泳约45分钟后拍照。抽提产物的得率依次为9.6 $\mu$ g、8.5 $\mu$ g和4.1 $\mu$ g，A260/A280依次为2.11、2.10和2.09，A260/A230依次为2.01、1.98和1.94。实际抽提效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，本图仅供参考。

**注：**纯的RNA其A260/A280约为2.0，但在很多仪器上测定时会高于2.0，低于1.9通常认为有蛋白、DNA或者酚等的污染；纯的RNA其A260/A230约为2.0左右或者略高，低于1.9通常认为有碳水化合物、胍盐、多肽或酚等的污染。

- **本试剂盒抽提得到的总RNA纯度高，显著优于Trizol方法。**抽提得到的总RNA的A260/A280通常为2.0-2.2。A260/A230通常为1.9-2.1。本试剂盒抽提获得的RNA的实测纯度参见图2。
- **本试剂盒适用于新鲜或冻存的动物组织或细胞总RNA与小RNA的抽提，推荐的细胞用量为50-100万，组织用量为3-5mg。**
- **本试剂盒可用于50个样品的总RNA(含小RNA)抽提。**

#### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
R0032-1	裂解液	16ml
R0032-2	结合液I	16ml
R0032-3	结合液II	38ml
R0032-4	洗涤液I	32ml
R0032-5	洗涤液II	63ml
R0032-6	洗脱液	5ml
R0032-7	RNA纯化柱及废液收集管	50套
R0032-8	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 $\mu$ l 2M DTT)或 $\beta$ -巯基乙醇至终浓度为1% (如1ml裂解液中加入10 $\mu$ l  $\beta$ -巯基乙醇)，含DTT或 $\beta$ -巯基乙醇的裂解液可在室温放置1个月。
- 通过本试剂盒抽提得到的RNA已经去除绝大多数DNA，通常情况无需DNase处理。后续如进行某些对DNA残留较敏感的实验，则需要在使用说明中步骤5离心后，在纯化柱中加入适量DNase I进行消化，具体请参考使用说明。
- 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<sup>TM</sup>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、II和洗涤液II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，与样品的裂解。

**细胞样品：**收集50-100万左右的细胞。对于悬浮细胞，1000-2000×g离心1分钟后弃上清，加入300 μl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 μl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3-5mg动物组织，置于液氮中研磨成粉末，立即加入300 μl裂解液。也可将组织置于1.5ml离心管中，迅速加入300 μl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14,000×g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：**细胞的数量一般不超过200万，动物组织的用量一般不超过10mg，用量过多可能会因裂解不充分导致得率下降。如果裂解后仍有粘稠物，需增加吹打次数至溶液完全澄清。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 μl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)转移至纯化柱内，12,000×g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16,000×g。对于一些能快速启动达到12,000×g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. 向回收的液体中加入700 μl结合液II，混匀后，将混合物(包括沉淀物)分两次通过上一步的纯化柱，每次12000×g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 μl)，因此须分成2次过柱，即将一半的混合物(约650 μl)加入纯化柱内后12000×g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12000×g离心30秒，并倒弃收集管内液体。

### 5. 加入600 μl洗涤液I，12,000×g离心30秒，倒弃收集管内液体。选做：通过本试剂盒抽提得到的RNA已经去除绝大多数DNA，通常情况无需DNase处理。后续如进行某些对DNA残留较敏感的实验时，可在本步骤离心后，在纯化柱中加入80 μl含10U DNase I的酶溶液(推荐使用碧云天RNase-free的DNase I, D7073或D7076, 每80 μl酶溶液按照71.8 μl水加8 μl 10X Reaction Buffer再加0.2 μl 50U/μl DNase I混合配制而成)，室温放置消化15分钟。消化结束后，不需要进行离心等任何额外的操作，直接进入步骤6。

### 6. 加入600 μl洗涤液II，12,000×g离心30秒，倒弃收集管内液体。

### 7. 重复步骤6一次。

### 8. 最高速(约14,000-16,000×g)离心2分钟，去除残留的液体。

### 9. 将RNA纯化柱置于本试剂盒提供的RNA洗脱管中，加入30-50 μl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总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 μl，但洗脱下来的总RNA量会相对减少。室温较低时，洗脱液在37 °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15-35%的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	RNALater™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

Version 2020.12.16