



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™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)

| 产品编号  | 产品名称                     | 包装  |
|-------|--------------------------|-----|
| R0024 | RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式) | 12次 |

### 产品简介:

- 碧云天的离心柱式RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(RNAeasy™ 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、高质量地抽提长度大于200个核苷酸(nucleotide, nt)的RNA的试剂盒。抽提获得的大于200个核苷酸的RNA(也常被称为总RNA)可以用于各种常规用途。
- 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<br>(含<200nt的小RNA)     | 总RNA<br>(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)<br>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(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，然后让RNA特异性地结合到纯化柱上，而基因组DNA和蛋白质等其它组分通过高速离心被有效去除，再通过3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RNA洗脱下来。

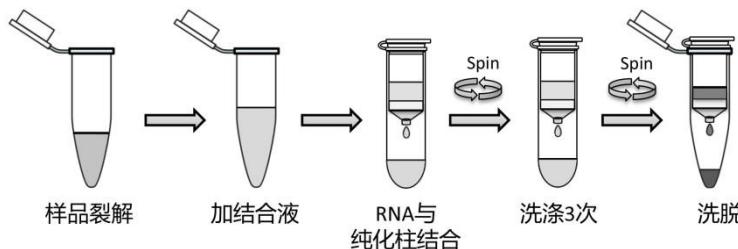


图1. 离心柱式RNA抽提流程示意图

- 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15-20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被降解的风险。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RNA的得率高**，优于国外同类产品。本试剂盒的抽提效果经反复测试，100万个HeLa细胞能抽提得到约15-20 $\mu$ gRNA，20mg小鼠肝组织能抽提得到约25-35 $\mu$ gRNA，20mg小鼠脑组织中抽提得到约10-20 $\mu$ gRNA(新鲜样品的得率高于冻存样品)。本试剂盒与传统的Trizol方法及国际知名Q品牌同类产品的抽提效果对比参见图2。
- **本试剂盒抽提得到的RNA纯度高**，显著优于Trizol和国外Q品牌的同类产品。本试剂盒抽提得到的RNA的A260/A280通常为2.0-2.2。A260/A230通常为1.9-2.1。本试剂盒与传统的Trizol方法及国际知名Q品牌同类产品的抽提效果对比参见图2。由图2可知，本试剂盒在抽提组织样品的RNA时，A260/A230非常显著地高于Trizol法和Q品牌的同类产品，提示纯度高。

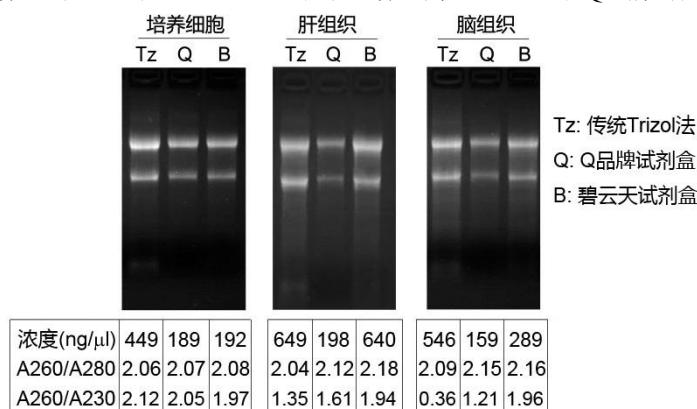


图 2. 本试剂盒与 Trizol、Q 品牌同类产品的 RNA 抽提效果对比。样品为冻存的 50 万个 HeLa 细胞、20mg 小鼠肝组织和 20mg 小鼠脑组织。洗脱液用量均为 40 $\mu$ l。均取 6 $\mu$ l 洗脱的样品经变性处理后，在含 6.67% 甲醛和适量 NA-Red 的 1.2% 变性琼脂糖凝胶中电泳约 45 分钟后拍照。实际抽提效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，本图仅供参考。

**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。

- 本产品与 Qiagen 公司的 RNeasy Mini Kit 一致，用于纯化 200nt 以上的 RNA，对小于 200nt 的 small RNA 即小 RNA(如 5.8S rRNA、5S rRNA、tRNA、miRNA、piRNA 等)被选择性地去除，如果希望抽提得到小于 200nt 的小 RNA，推荐使用碧云天的 RNAeasy™ 动物小 RNA 抽提试剂盒(离心柱式)(R0028)或 RNAeasy™ Plus 动物 RNA 抽提试剂盒(离心柱式)(R0032)。
- 本试剂盒适用于新鲜或冻存的动物组织或细胞RNA的抽提，推荐的细胞用量为50-100万(上限可达1000万)，组织用量为15-20mg(上限可达30mg)。对于不同的组织或细胞上限会有所差别，例如小鼠肝脏组织的上限可达30mg，但肌肉组织的上限为20mg。
- 本试剂盒可用于12个样品的RNA抽提。

#### 包装清单：

| 产品编号    | 产品名称         | 包装    |
|---------|--------------|-------|
| R0024-1 | 裂解液          | 8ml   |
| R0024-2 | 结合液          | 8ml   |
| R0024-3 | 洗涤液I         | 8ml   |
| R0024-4 | 洗涤液II        | 15ml  |
| R0024-5 | 洗脱液          | 1.2ml |
| R0024-6 | RNA纯化柱及废液收集管 | 12套   |
| R0024-7 | RNA洗脱管       | 12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残留较敏感的实验时，可以在使用说明中步骤4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™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、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. 样品的准备。

**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15-20mg动物组织，置于液氮中研磨成粉末，立即加入600 μl裂解液。也可将组织置于1.5ml离心管中，迅速加入600 μl冰浴预冷的裂解液，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500万，不超过100万细胞宜使用300 μl裂解液，多于100万细胞宜使用600 μl裂解液。动物组织的用量一般不超过30mg，用量过多可能会因裂解不充分导致得率下降。组织样品在裂解和离心后，离心管下部可能会有一些胶状物质，宜作为上清转移至下一步操作。如果弃除胶状物，会导致得率下降约30-50%。后续加入结合液后胶状物会消失。离心是为了去除未匀浆充分的明显块状物。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. 加入等体积结合液至裂解液中，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，倒弃收集管内液体。

**注意：** 当裂解液的体积大于300 μl时，在加入等体积结合液后，总体积会超过纯化柱的容量，这时应分成2次过柱，即将一半的混合物过柱后，再将剩余的混合物重复步骤3一次。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. 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5。

### 5. 加入600 μl洗涤液II，12,000×g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14,000-16,000×g)离心2分钟，去除残留的液体。

### 8. 将RNA纯化柱置于本试剂盒提供的RNA洗脱管中，加入30-50 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15-40%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