

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	50-100万/5-20μg	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, 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。

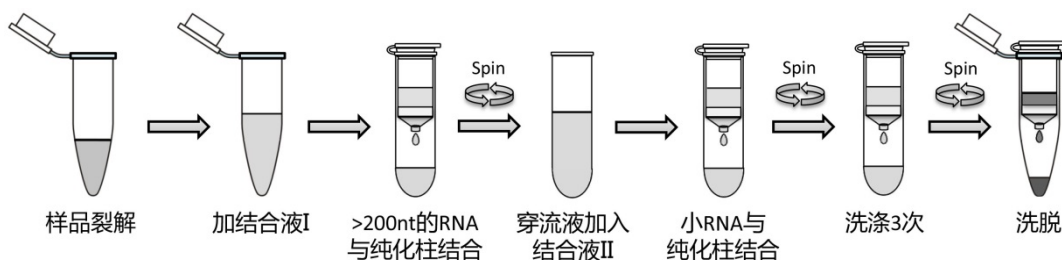


图1. 离心柱式总RNA(>200nt的RNA和<200nt的小RNA)抽提流程示意图

- **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 μ g总RNA，5mg冻存的小鼠肝组织能抽提得到约6-10 μ g总RNA，5mg冻存的小鼠肾组织能抽提得到约3-5 μ 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。

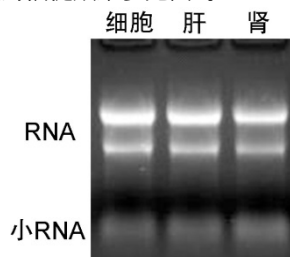


图2. 本试剂盒总RNA抽提效果。样品为冻存的50万个HeLa细胞、5mg小鼠肝组织和5mg小鼠肾组织。洗脱液用量均为40 μ l。均取6 μ l洗脱的样品经变性处理后，在含6.67%甲醛和适量NA-Red的1.2%变性琼脂糖凝胶中电泳约45分钟后拍照。抽提产物的得率依次为9.6 μ g、8.5 μ g和4.1 μ g，A260/A280依次为2.11、2.10和2.09，A260/A230依次为2.01、1.98和1.94。实际抽提效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，本图仅供参考。

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 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。
- 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™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50-100万左右细胞。对于悬浮细胞，1000-2000×g离心1分钟后弃上清，加入300μl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300μl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300μl裂解液。也可将组织置于1.5ml离心管中，迅速加入300μl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300μl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700μl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750μl)，因此须分成2次过柱，即将一半的混合物(约650μl)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600μl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80μl含10U DNase I的酶溶液(推荐使用碧云天RNase-free的DNase I，D7073或D7076，每80μl酶溶液按照71.8μl水加8μl 10X Reaction Buffer再加0.2μl 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600μl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30-50μl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20μl，但洗脱下来的总RNA量会相对减少。室温较低时，洗脱液在37℃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

使用本产品的文献：

1. Jiachuan Xiong, Li Ran, Yingguo Zhu, Yaqin Wang, Shaobo Wang, Yue Wang, Qigang Lan, Wenhao Han, Yong Liu, Yinghui Huang, Ting He, Yan Li, Li Liu, Jinghong Zhao, Ke Yang . DUSP2-mediated inhibition of tubular epithelial cell pyroptosis confers nephroprotection in acute kidney injury Theranostics. 2022 Jul 4;12(11):5069-5085.
2. Jinzhi Meng, Huawei Du, Haiyuan Lv, Jinfeng Lu, Jia Li, Jun Yao . Identification of the osteoarthritis signature gene PDK1 by machine learning and its regulatory mechanisms on chondrocyte autophagy and apoptosis Front Immunol. 2023 Jan 6;13:1072526.
3. Yu-Wei Yang, Xin Meng, Yuan-Yuan Meng, Hai-Kang Tang, Ming-Hui Cheng, Zi-Qi Zhang, Wen-Qing Xu, Wei Long . ceRNA regulatory network of FIH inhibitor as a radioprotector for gastrointestinal toxicity by activating the HIF-1 pathway Mol Ther Nucleic Acids. 2021 May 19;25:173-185.
4. Jiefu Zhu, Yafei Zhang, Lang Shi, Yao Xia, Hongchu Zha, Huimin Li, Zhixia Song . RP105 protects against ischemic and septic acute kidney injury via suppressing TLR4/NF- κ B signaling pathways Int Immunopharmacol. 2022 Aug;109:108904.
5. Wendan He, Xianlong Xie, Chenxi Li, Huang Ding, Jishi Ye . Adenosine A2A Receptor Antagonist Improves Cognitive Impairment by Inhibiting Neuroinflammation and Excitatory Neurotoxicity in Chronic Periodontitis Mice Molecules. 2022 Sep 23;27(19):6267.
6. Linxin Pan, Ying Hu, Cheng Qian, Yan Yao, Shuxian Wang, Wanrong Shi, Tao Xu . RNF2 mediates pulmonary fibroblasts activation and proliferation by regulating mTOR and p16-CDK4-Rb1 signaling pathway Inflamm Res. 2022 Nov;71(10-11):1283-1303.
7. Huangming Zhuang, Bin Li, Ting Xie, Changgeng Xu, Xunshan Ren, Fuze Jiang, Tianrun Lei, Panghu Zhou . Indole-3-aldehyde alleviates chondrocytes inflammation through the AhR-NF- κ B signalling pathway Int Immunopharmacol. 2022 Dec;113(Pt A):109314.
8. Liqun Wang, Wentao Zhang, Ruiyan Cen, Chenda Yue, Tianzhen Xiao, Yumeng Deng, Lingfei Li, Kedai Sun, Xia Lei . ALA-PDT regulates macrophage M1 polarization via ERK/MAPK-NLRP3 pathway to promote the early inflammatory response Lasers Surg Med. 2022 Dec;54(10):1309-1320.

Version 2024.03.12