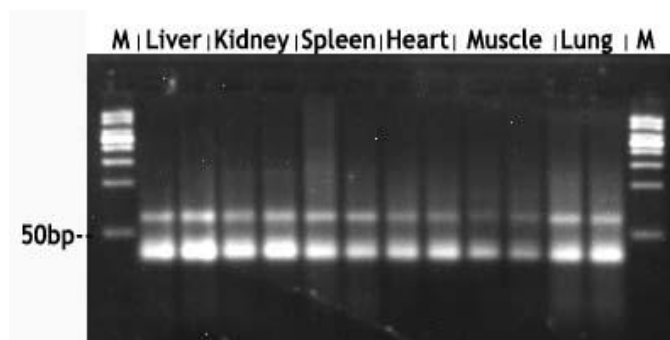


广谱型的小分子 RNA 抽提

简介

第一个被确认的 miRNA 是在线虫中首次发现的 lin-4 和 let-7, 随后多个研究小组在包括人类、果蝇、植物等多种生物物种中分别鉴别出数百个 miRNAs。随着越来越多 miRNA 家族的出现及其在基因调控中的重要作用的揭露, miRNA 的特征、作用机制、生物学功能和 RNAi 技术等已成为生物学研究的热点。其中的小干扰 RNA (Small interfering RNA, SiRNA) 更是在肿瘤基因治疗中发挥重大作用。目前常用 RNA 纯化方法主要适合于大分子 RNA (>200nt), 小分子 RNA, 特别是小于 50nt 的小分子 RNA 常常发生丢失或回收效率不高。或者因无法分离大分子 RNA 和小分子 RNA 而不能富集小分子 RNA, 而影响下游的应用。Magenc 公司 Universal miRNA Kit 采用 MagZol Reagent 抽提技术和硅胶柱纯化技术, 可高效地从 30-50mg 动物组织, 1 x 10⁷ 培养细胞, 50-100mg 植物样品等生物样品中富集小分子 RNA (<200nt)。富集的小分子 RNA 中几乎不含大分子 RNA 和基因组 DNA 的污染、可直接用于 RT-PCR、芯片分析、Northern 杂交等应用。此外, 该试剂盒还可以将其副产品大分子 RNA (>200nt) 纯化得到。得到的大分子 RNA 可直接用于 RT-PCR、Northern 等相关的表达分析。

由数据可知, OD260/280 在 1.9-2.1 之间, 表明小分子 RNA 纯度高。由产量可知, 50mg 肝脏中小分子含量约 26-29 μg, 肌肉中小分子含量也高达 11μg, 表明小分子的得率高。取小分子 RNA (~1μg) 上样于 3% 琼脂糖凝胶电泳分析, 结果如下。由图可知, 该方法得到的小分子 RNA 中无大分子 RNA 污染。由 DNA Marker 可知, 小分子 RNA 主要位于 50bp 以下的片段。这表明试剂盒可高效地富集小分子 RNA。



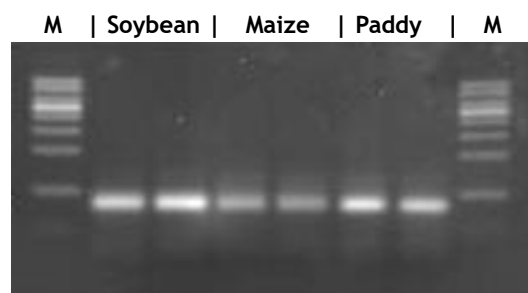
1.2. 小分子 RNA 抽提效果

抽提后得到大分子 RNA 用 Nanodrap 2000 测量其 OD 值。结果表明, 大分子 RNA 得率高, 而且纯度也很理想。

样品	Conc.ug/ul	260/280	260/230	产量 ug
肝	0.4231	2.11	1.94	169.2
肝	0.4538	2.07	1.98	181.5
肾	0.2599	2.08	1.99	103.9
肾	0.2573	2.06	1.99	103.7
脾	0.6382	2.11	2.28	127.6
脾	0.6383	2.11	2.06	127.7
心	0.3654	2.13	1.96	73.1
心	0.3342	2.11	2.41	66.8
肌	0.0334	2.1	1.99	6.7
肌	0.0558	1.82	2.57	11.2
肺	0.1738	2.09	2.02	34.8
肺	0.162	2.08	2.21	32.4

2. 植织样品大分子和小分子 RNA 抽提效果

取 100mg 黄豆, 玉米, 水稻叶片样品, 按 HiPure Universal miRNA Kit 进行抽提, 抽提后得到的小分子 RNA 用 Nanodrap 2000 测量其 OD 值, 用 3% 琼脂糖电泳分析小分子 RNA 的带型。



样品类型	样品量	miRNA 产量	大分子 RNA 产量
动物组织	<50mg	<30μg	<150μg
植物组织	<100mg	<30μg	<150μg
培养细胞	<1 x 10 ⁷	<30μg	<150μg
细菌	<5 x 10 ⁸	<30μg	<150μg
酵母	<2 x 10 ⁷	<30μg	<150μg

结果

1. 动物组织样品大分子与小分子抽提效果

取 50mg 鸡组织样品, 按 HiPure Universal miRNA Kit 进行抽提大分子 RNA 和小分子 RNA。

1.1 小分子 RNA 抽提效果

抽提后得到小分子 RNA 用 Nanodrap 2000 测量其 OD 值和 3% 琼脂糖电泳分析小分子 RNA 的带型。

样品	浓度 μg/μl	A260	A280	260/280	产量 μg
肝	0.4888	12.22	6.5	1.88	29.3
肝	0.4334	10.835	5.315	2.04	26.0
肾	0.2019	5.048	2.52	2.00	12.1
肾	0.2296	5.74	2.851	2.01	13.7
脾	0.3211	8.027	4.018	2.00	19.2
脾	0.2175	5.438	2.703	2.01	13.0
心	0.1459	3.647	1.806	2.02	8.7
心	0.1414	3.535	1.774	1.99	8.4
肌	0.1896	4.74	2.429	1.95	11.3
肌	0.1415	3.536	1.883	1.88	8.4
肺	0.2302	5.754	2.858	2.01	13.8
肺	0.2077	5.192	2.583	2.01	12.4

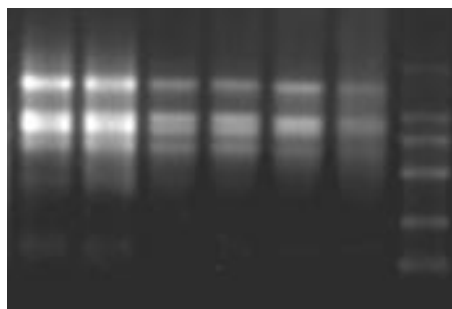
删除[Unknown]:

样品	浓度 μg/μl	A260	A280	260/ 280	产量 μg
	0.268	6.699	4.054	1.65	16.1
Soybean	0.2364	5.91	3.457	1.71	14.2
	0.1776	4.44	3.148	1.41	10.7
Maize	0.1611	4.028	2.909	1.38	9.7
	0.0366	0.916	0.459	1.99	2.2
Paddy	0.0318	0.794	0.381	2.08	1.9

由数据可知，OD260/280 在 1.9-2.1 之间，表明小分子 RNA 纯度高。由产量可知，100mg 黄豆叶片小分子含量约 14-16 μg。取小分子 RNA (~1μg) 上样于 3% 琼脂糖凝胶电泳分析，结果如下。由图可知，该方法得到的小分子 RNA 中无大分子 RNA 污染。由 DNA Marker 可知，小分子 RNA 主要位于 50bp 以下的片段。这表明试剂盒可高效地富集小分子 RNA。

抽提后得到的大分子 RNA 用 Nanodrap 2000 测量其 OD 值，用 1.2% 琼脂糖电泳分析大分子 RNA 的带型。结果表明，大分子 RNA 几乎不含 200nt 以下的片段，表明大分子 RNA 中不含小分子 RNA。OD 读数表明，使用 HiPure Universal miRNA Kit 得到的植物大分子 RNA 纯度高，产量高。

| Soybean | Maize | Paddy | M



样品	浓度 μg/μl	A260	A280	260/ 280	产量 μg
Soybean	0.3617	9.043	4.123	2.19	72.34
	0.4051	10.129	4.612	2.2	81.02
	0.062	1.55	0.752	2.06	12.4
Maize	0.0497	1.242	0.598	2.08	9.94
	0.0729	1.822	0.861	2.12	14.58
Paddy	0.0669	1.672	0.788	2.12	13.38