

使用 Kurabo 核酸提取系统高效提取白细胞中 RNA

同其他方法的比较

RNA 的提取是分子生物学研究领域较为重要的部分，也是基因组学的研究基础，特别是在研究基因调控机制等方面；RNA 提取质量的好坏直接影响到后续的试验（反转录、PCR 等）结果。使用 Kurabo 的 Mini480 机器和 RB-S 试剂盒提取血液中白细胞 RNA 具有快速、高效、无需离心等特点，且得到的核酸具有高纯度、长片段等特点。

【提取方案】

红细胞裂解后将白细胞团状物放置在 1.5 ml 离心管中（白细胞最大数量为 1.5×10^7 ）



轻拍离心管，打松团状物



加 520 μ l LRB（含 2-ME，10 μ l/ml）

最大速度涡旋 30 秒，混合均匀，自然沉降



加 250 μ l 乙醇（>99%）

最大速度涡旋 5 分钟，混合均匀，自然沉降（可添加氧化锆微球，提高处理效率）



得到裂解液



转移至 Mini 480 上，低压过多孔膜，洗涤核酸



洗脱，得到总 RNA

【结果】

1、RNA 的得量

	白细胞数量	QuickGene	离心柱法	自动磁珠法
DNA 酶处理	2×10^6	0.6	0.4	0.7
	1×10^7	4.5	3.8	-
	1.5×10^7	6.5	-	-
无 DNA 酶处理	1.0×10^7	5.0	4.2	-

离心柱法的最大白细胞数量为 1×10^7

自动磁珠法的最大白细胞数量为 2×10^6

2、蛋白污染：A260/A280

	白细胞数量	QuickGene	离心柱法	自动磁珠法
DNA 酶处理	2×10^6	2.20	2.04	2.46
	1×10^7	2.21	2.09	-
	1.5×10^7	2.10	-	-
无 DNA 酶处理	1.0×10^7	2.17	2.10	-

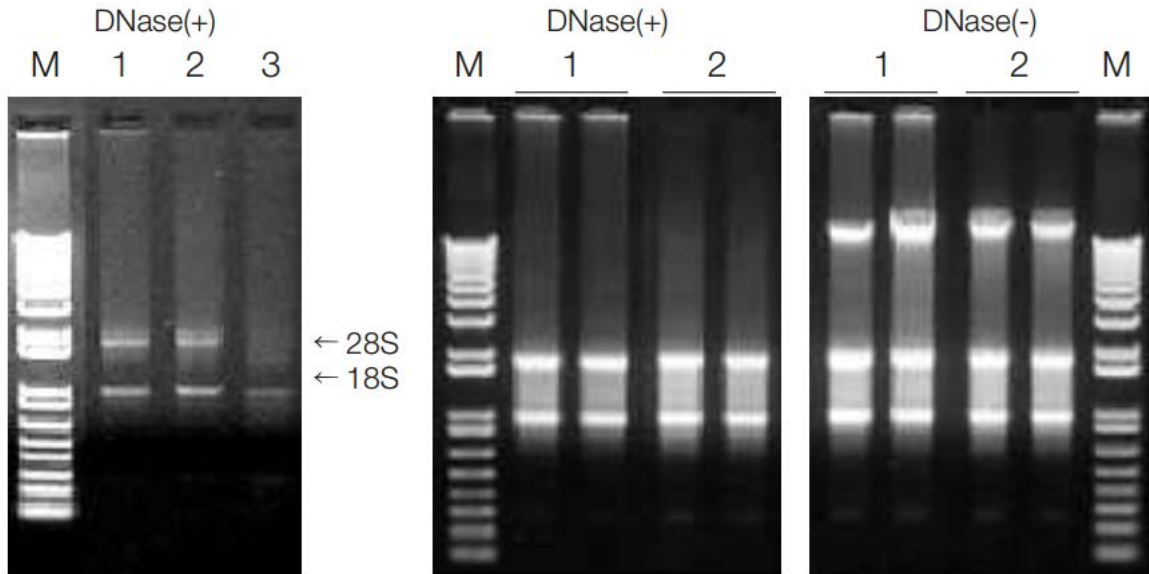
离心柱法的最大白细胞数量为 1×10^7

自动磁珠法的最大白细胞数量为 2×10^6

3、总 RNA 电泳图 (1%琼脂糖凝胶/1×TAE)

白细胞数量： 2×10^6

白细胞数量： 1×10^7

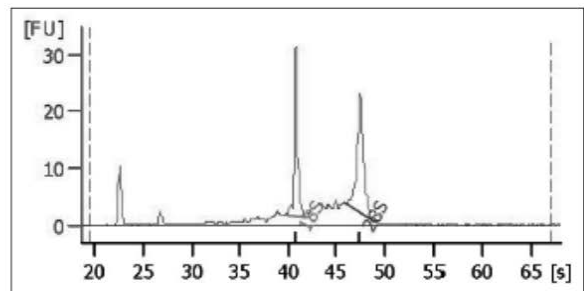
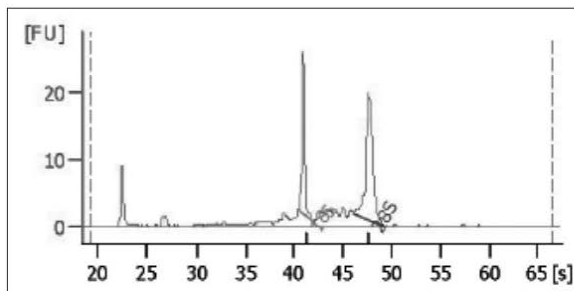


注：DNase：DNA 酶，M：Marker，1Kb；1：QuickGene；2：离心柱法；3：自动磁珠提取法

4、总 RNA 质量 (DNase 酶处理)

QuickGene (白细胞数量： 1×10^7)

离心柱法 (白细胞数量 1×10^7)

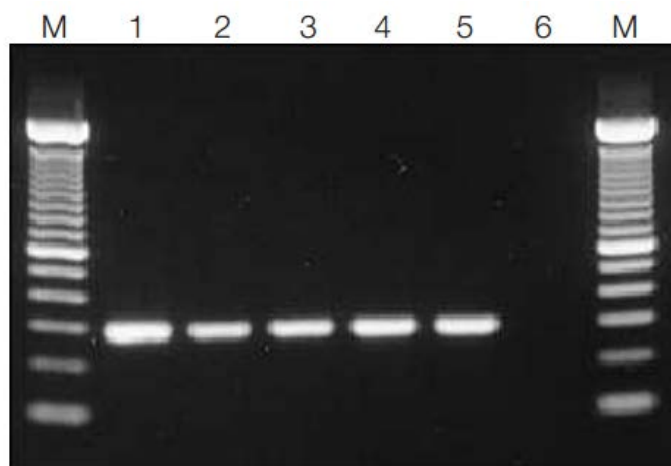


	白细胞数量	QuickGene	离心柱法	自动磁珠法
RIN	2×10^6	7.7	6.5	5.0
	1×10^7	9.2	8.8	-
28S/18S	2×10^6	1.5	0.8	0.0

	1×10^7	1.6	1.2	-
--	-----------------	-----	-----	---

注：RIN (RNA 完整数)：表征 RNA 质量的值，最优 RIN 值=10

5、反转录 PCR



注：M：Marker,100bp；1：阳性对照；2、3：QuickGene；4、5：离心柱法；6、阴性对照

6、定量 PCR

QuickGene	3.15×10^7
离心柱法	1.11×10^7

注：每 $1\mu\text{g}$ 总 RNA (从 1×10^7 白细胞中提取) 中的 GAPDH 的拷贝数

【结论】

使用 Kurabo 的 Mini480 机器和 RB-S 试剂盒提取白细胞的 RNA 具有高质量的特点，并无蛋白污染，且省时省力。

具体请详询天美 (中国) 科学仪器有限公司。