

## 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  $1.5 \times 10^7$ ）



轻拍离心管，打松团状物



加 520  $\mu$ l LRB（含 2-ME，10  $\mu$ l/ml）

最大速度涡旋 30 秒，混合均匀，自然沉降



加 250  $\mu$ 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	$2 \times 10^6$	0.6	0.4	0.7
	$1 \times 10^7$	4.5	3.8	-
	$1.5 \times 10^7$	6.5	-	-
无 DNA 酶处理	$1.0 \times 10^7$	5.0	4.2	-

离心柱法的最大白细胞数量为  $1 \times 10^7$

自动磁珠法的最大白细胞数量为  $2 \times 10^6$

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	$2 \times 10^6$	2.20	2.04	2.46
	$1 \times 10^7$	2.21	2.09	-
	$1.5 \times 10^7$	2.10	-	-
无 DNA 酶处理	$1.0 \times 10^7$	2.17	2.10	-

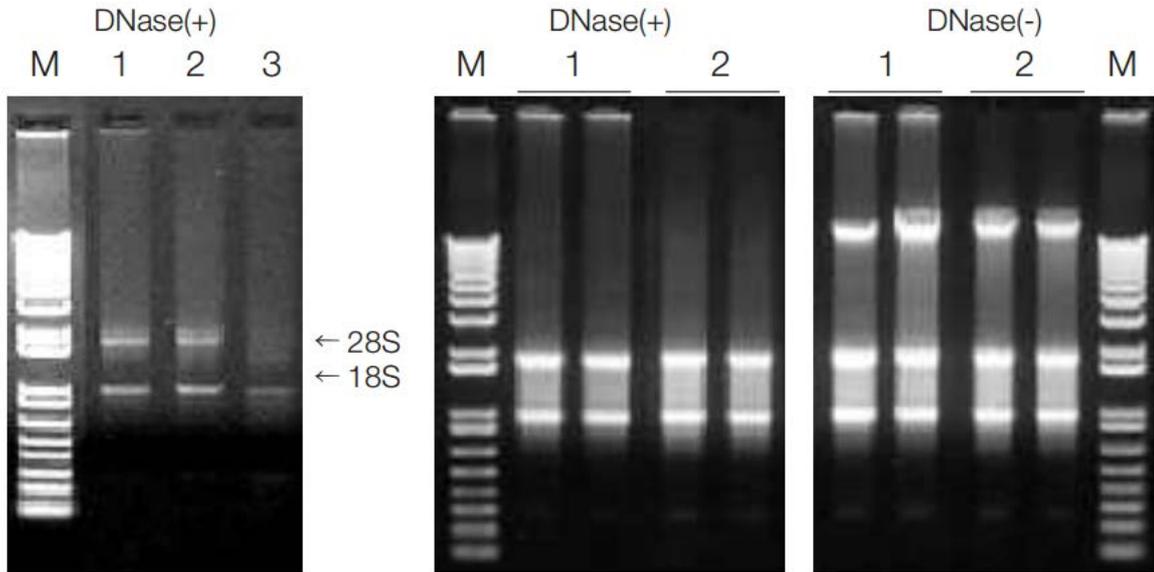
离心柱法的最大白细胞数量为  $1 \times 10^7$

自动磁珠法的最大白细胞数量为  $2 \times 10^6$

### 3、总 RNA 电泳图 ( 1%琼脂糖凝胶/1×TAE )

白细胞数量： $2 \times 10^6$

白细胞数量： $1 \times 10^7$

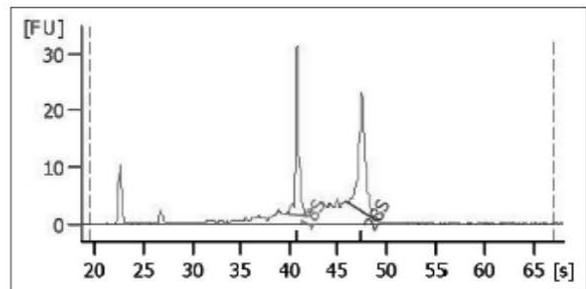
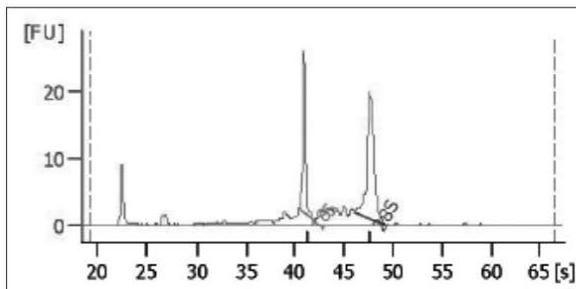


注：DNase：DNA 酶，M：Marker，1Kb；1：QuickGene；2：离心柱法；3：自动磁珠提取法

### 4、总 RNA 质量 ( DNase 酶处理 )

QuickGene ( 白细胞数量： $1 \times 10^7$  )

离心柱法 ( 白细胞数量  $1 \times 10^7$  )

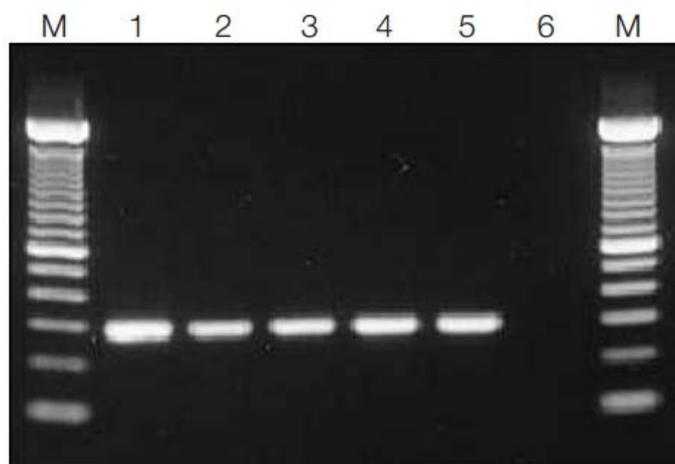


	白细胞数量	QuickGene	离心柱法	自动磁珠法
RIN	$2 \times 10^6$	7.7	6.5	5.0
	$1 \times 10^7$	9.2	8.8	-
28S/18S	$2 \times 10^6$	1.5	0.8	0.0

	$1 \times 10^7$	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	$3.15 \times 10^7$
离心柱法	$1.11 \times 10^7$

注：每  $1\mu\text{g}$  总 RNA (从  $1 \times 10^7$  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。