

不含酚氯仿的小分子 RNA 抽提方法

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 家族地发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) 更是在肿瘤的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。或者是区别大分子 RNA 和小分子 RNA, 无法富集小分子 RNA, 而影响下游的应用。目前常用的小分子纯化试剂盒是结合酸性酚异硫氰酸胍和硅胶柱纯化技术来去除大分子 RN 和基因组 DNA, 从而达到富集小分子 RNA 的目的。但是这些产品需要接触到酚氯仿抽提, 对操作者和环境都有一定的危害, 而且整个流程耗时较长, 操作繁杂。

Magentec 公司 Phenol-Free miRNA Kit 采用硅胶柱纯化技术, 可高效地从 <50mg 动物组织, 1×10^7 培养细胞样品中富集小分子 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。

结果

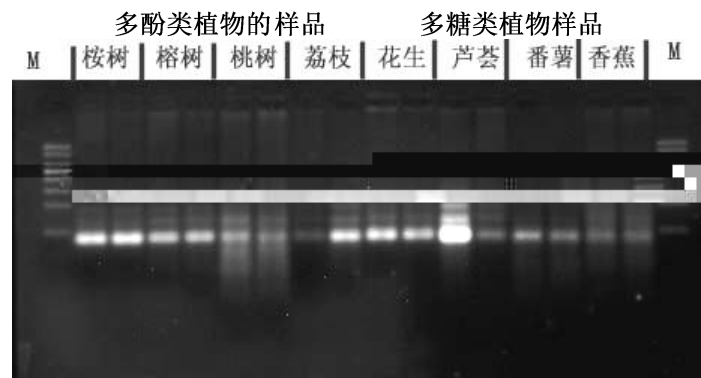
● 植物样品小分子抽提效果

取 100mg 常规植物样品, 多糖类植物样品以及多酚类植物样品, 然后按 Plant 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。

类型	Sample	Conc. $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	260/280	260/230	产量 μg
多酚类	桉树	0.2185	1.99	1.71	13.11
	桉树	0.1805	2	1.68	10.83
	榕树	0.1054	2.05	1.46	6.324
	榕树	0.1066	2.01	1.96	6.396
	桃树	0.3093	2.12	1.72	18.558
	桃树	0.289	2.1	1.68	17.34
	荔枝	0.1368	2.04	1.68	8.208
	荔枝	0.1334	2.02	1.65	8.004
多糖类	花生	0.1235	1.96	1.49	7.41
	花生	0.129	1.88	1.2	7.74
	芦荟	0.0316	2.21	1.81	1.896
	芦荟	0.033	2.17	2.14	1.98
	番薯	0.0874	2.07	1.68	5.244
	番薯	0.1129	2.06	1.73	6.774
	香蕉	0.1547	2.09	2.14	9.282
	香蕉	0.1634	2.1	1.91	9.804

类型	Sample	Conc. $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	260/280	260/230	产量 μg
常规	黄豆	0.0613	2.11	1.18	3.678
	黄豆	0.0568	2.13	1.12	3.408
	玉米	0.0825	1.98	1.53	4.95
	玉米	0.0884	1.93	1.38	5.304
	冬瓜	0.2812	2.12	2.13	16.872
	竹子	0.3685	2.07	1.92	22.11

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, 肝脏中小分子含量约 26-29 μg , 肌肉中小分子含量也高达 11 μg , 表明小分子的得率高。取小分子 RNA (~1 μg) 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 30bp-100bp 之间, 转化为 RNA 时, 约 60-200nt。这表明试剂盒可高效地富集小分子 RNA。



常规类植物的样品

