

天恩泽畅销产品系列之

柱式动物RNAout

(产品编号：70901-50)

RNA (Ribonucleic Acid, 核糖核酸) 简介

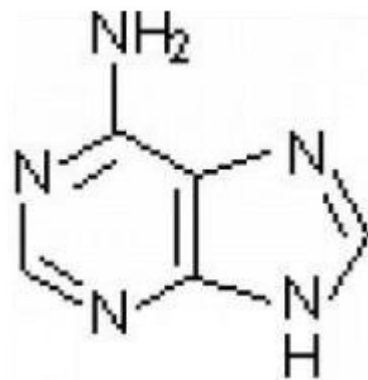
定义:

分子生物学研究三大内容之一 (DNA, RNA和蛋白质)。

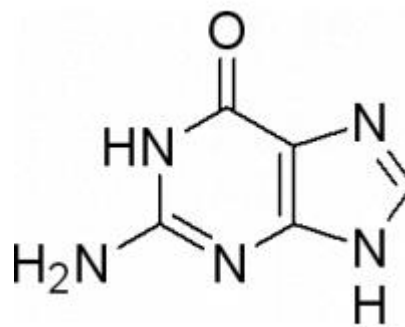
结构: RNA由核糖核苷酸经磷酸二酯键缩合而成的链状分子。核糖核苷酸又由磷酸, 核糖和碱基构成。核糖核酸跟核糖核苷酸的关系类似墙与砖的关系, 四种碱基等于让砖有四种颜色。遗传信息就是4种颜色的各种组合。

功能: 把遗传信息从DNA传给蛋白质, 充当遗传物质 (仅限部分RNA病毒和类病毒)。

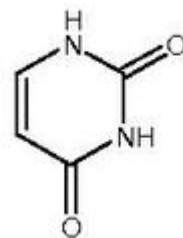
四种碱基:



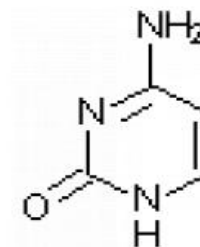
腺嘌呤(A)



鸟嘌呤(G)



尿嘧啶(U)



胞嘧啶(C)

RNA和DNA区别

结构上:

DNA是双链, RNA是单链。

化学上:

DNA是脱氧核糖+碱基ATGC+磷酸

RNA是核糖+碱基AUGC+磷酸

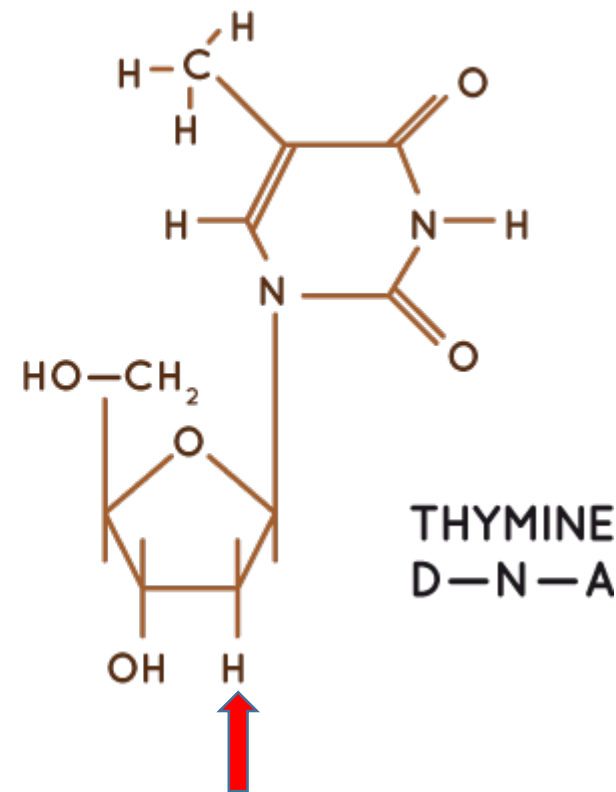
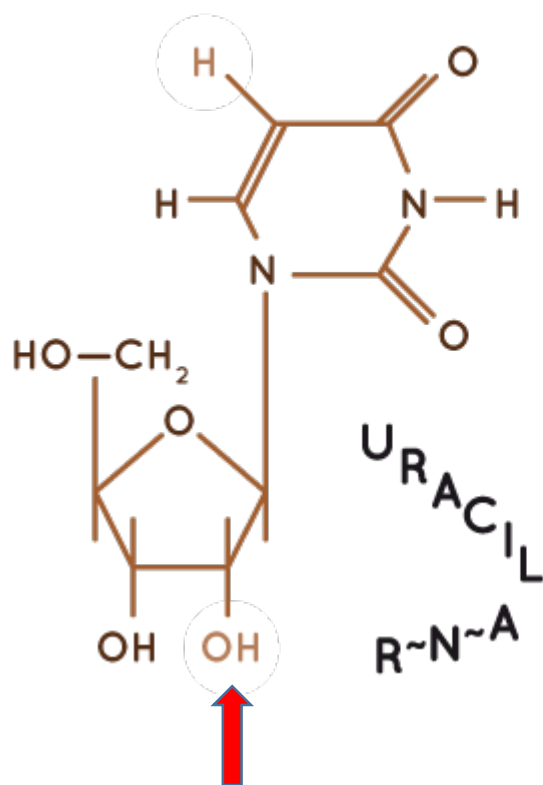
脱氧核糖无-OH, 惰性

核糖, 有-OH, 非常活跃

结果:

DNA非常稳定 (DNA考古)

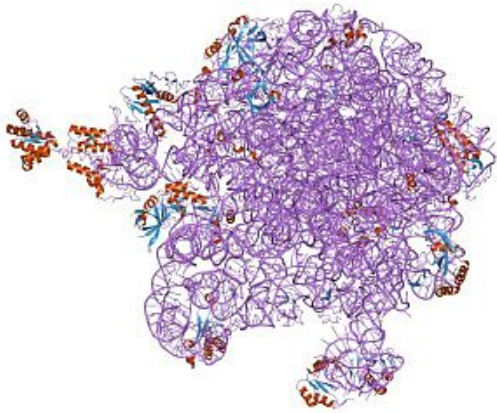
RNA非常容易降解 (尤其在碱性条件下)



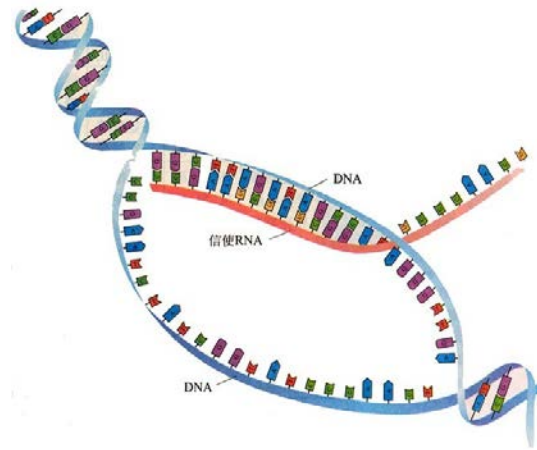
RNA种类

细胞RNA（总RNA）分四类RNA：3种rRNA（占85%左右），21种tRNA（占10%左右）、几千种mRNA（占5%左右），几百种miRNA（小于1%），细胞器RNA（如线粒体RNA）。电泳能看见的只有3条带（2条rRNA和1条小RNA和tRNA混合带，因为大小接近），其大的两条的比例（2:1）可用来判断提取的总RNA的质量。

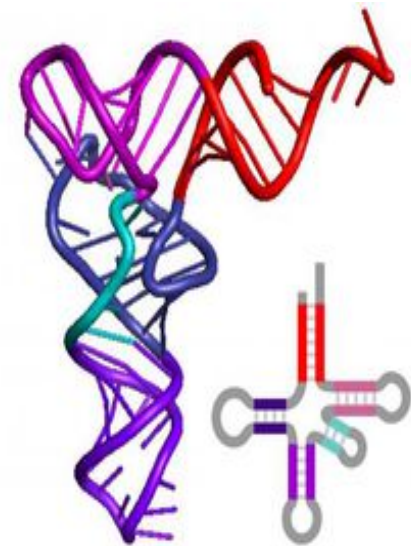
RNA病毒只一种RNA。植物叶片细胞还有叶绿体RNA，含量非常高，故电泳能见5条RNA带。



rRNA



mRNA



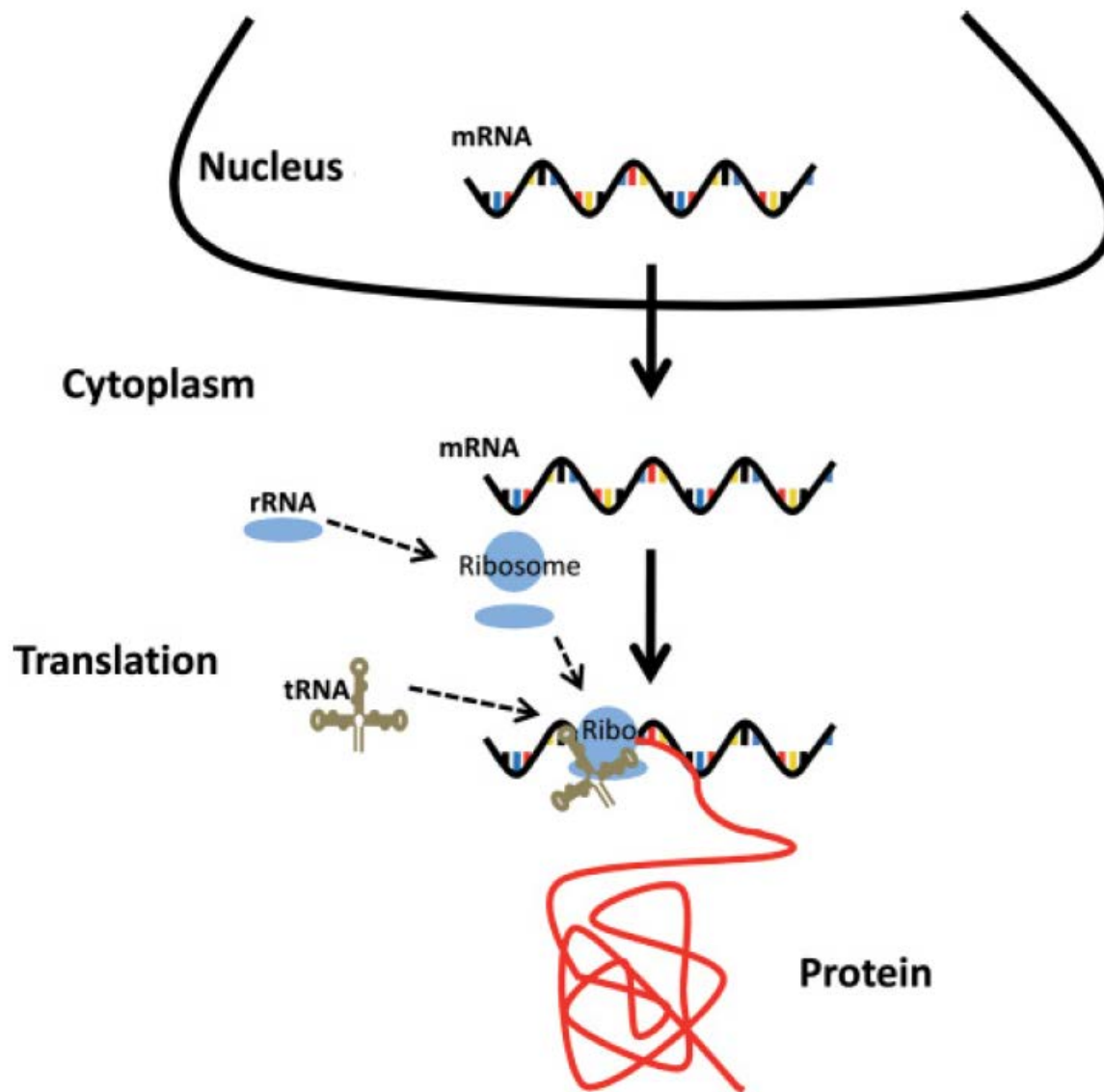
tRNA

三种RNA在蛋白合成中的分工

mRNA: 设计图

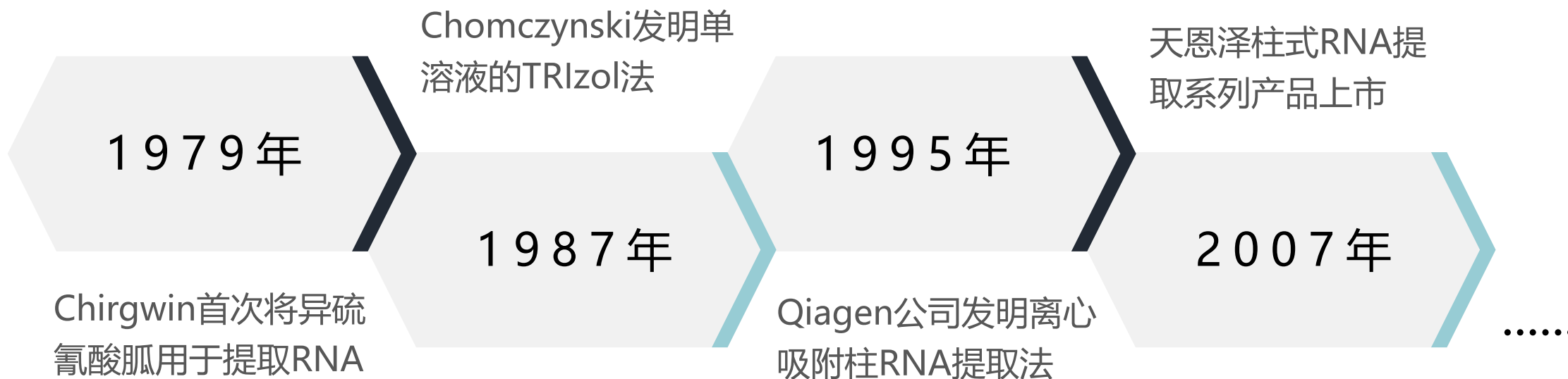
tRNA: 原料车

rRNA: 生产线



RNA提取技术大事记

从1960年Kurland首次纯化RNA到1979年，文献报道过的RNA提取方法包括氯化铯梯度离心法、SDS法、CTAB法、氯化锂法、热酚法、尿素法、盐酸胍法等等，1979年之后基于异硫氰酸胍的方法才逐渐成为主流方法。

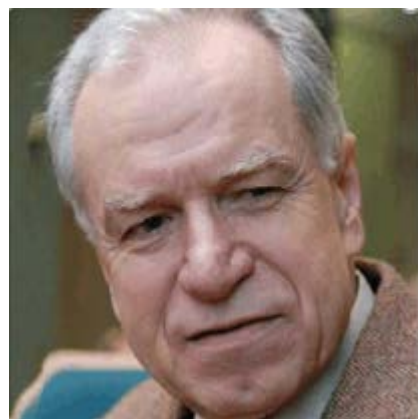


主流方法TRIZol法简介

1987年，美国科学家Piotr Chomczynski和Nicoletta Sacchi发明TRIZol提取RNA方法。

20世纪90年代，Piotr Chomczynski将专利卖给Invitrogen公司，该公司将此方法推广到世界。

2008年，Invitrogen与Applied Biosystems合并成Life Technologies。2014年，Thermo Fisher收购上市公司Life Technologies。



Piotr Chomczynski



Nicoletta Sacchi

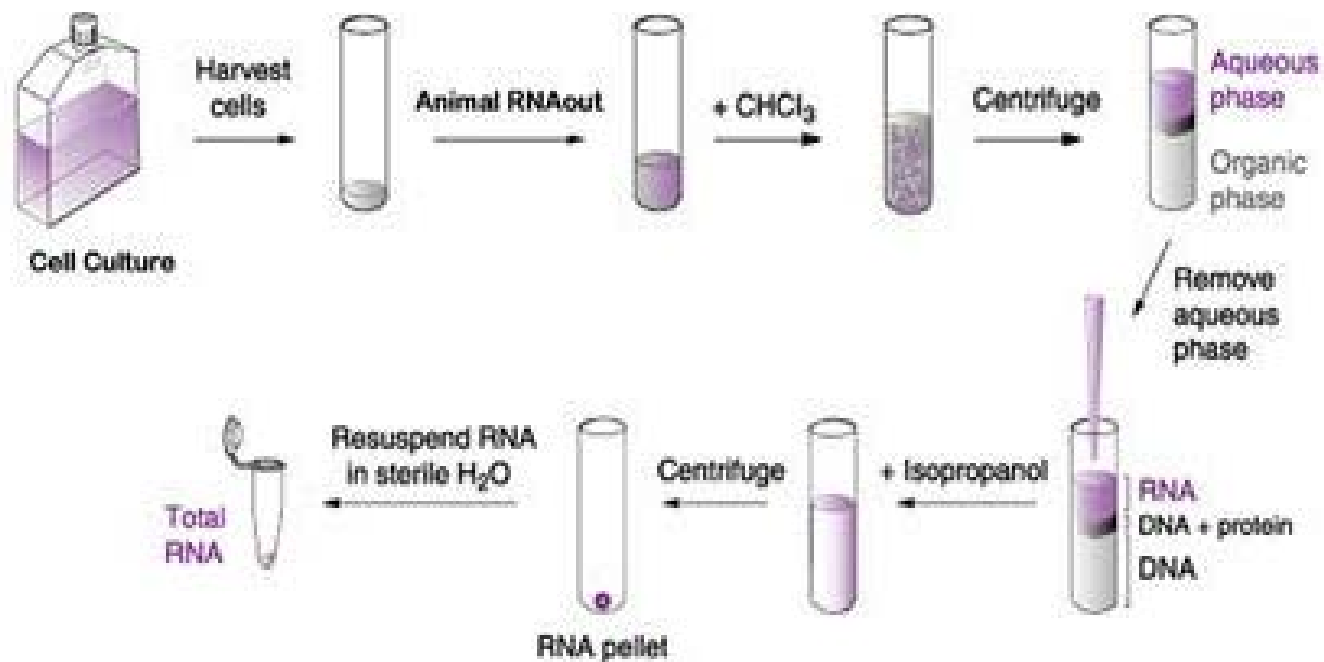
TRIzol法操作流程

优点:

单溶液试剂，而别的方法是多溶液
可用于提取DNA和蛋白质
主要用于动物RNA提取

缺点:

三次离心，时间长，共需45分
必须使用氯仿（管控品）
沉淀法除杂质，不容易除尽



柱式动物RNAout简介

优点:

- 比TRIzol法快30分钟左右
- 得到的RNA纯度高 (柱式法普遍优点)
- 可以不使用氯仿
- 价格比进口TRIzol便宜

离心吸附柱 (含套管)



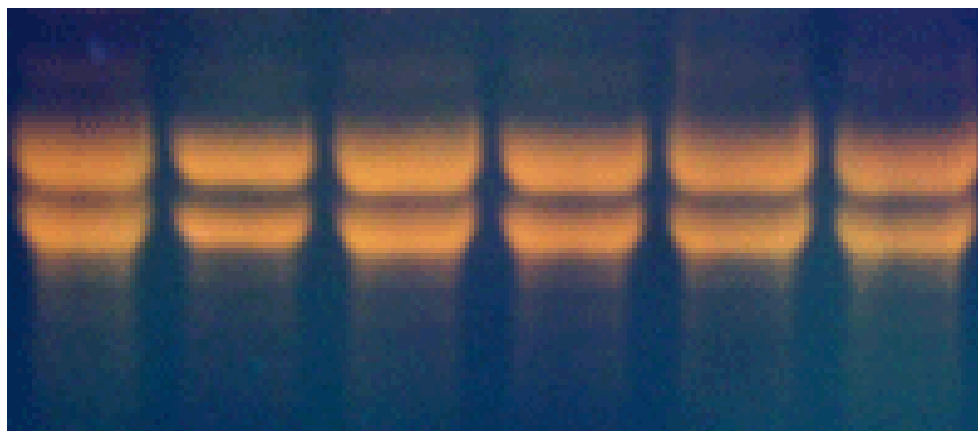
流程:



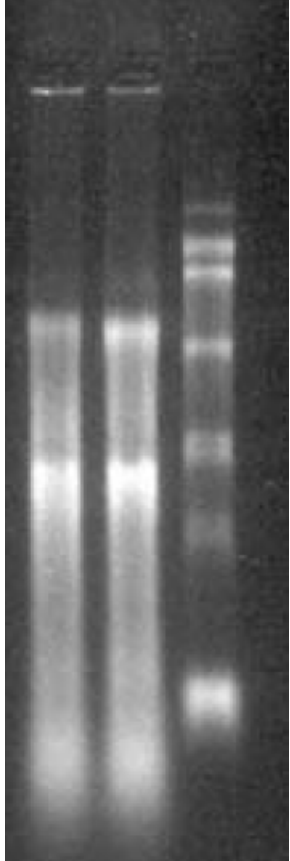
柱式动物RNAout使用效果

材料	泥鳅肌肉组织0.1克
电泳胶	甲醛变性琼脂糖凝胶
电泳染料	EB (溴化乙锭)
电泳量	5uL(洗脱量为50uL)
OD结果	OD260/280都在2.0-2.1之间

大小条带亮度比例
为近乎完美的2:1



常见问题1：RNA降解



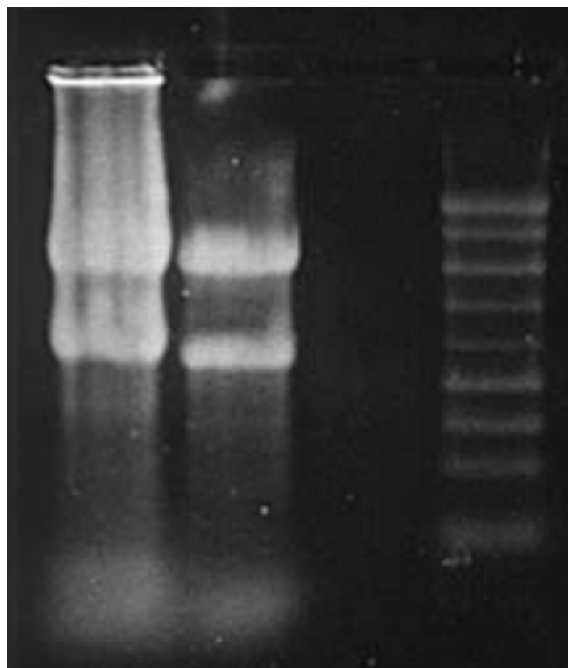
问题

- 两条大RNA条带的比例不是2:1（见左图2个样，它们还有基因组污染问题）。
- RT-PCR时扩增效率低于正常水平。

原因及对策

- 提取的RNA在电泳时降解（电泳液不新鲜，有细菌真菌污染，它们释放的RNase降解了RNA）。对策是换电泳液。
- 所加样品太多，超过试剂的裂解能力。对策是准确称量。
- 所用样品不新鲜，RNA已经部分或彻底降解。对策是使用新鲜样品。
- 其他原因（如试剂盒问题）。

常见问题2：基因组DNA污染



问题

- 加样孔里面有条带（左图最左样品）。
- RT-PCR时不加逆转录酶也有扩增产物，长度符合基因组扩增预期。

原因及对策

- 加样太多，超过试剂去除DNA的能力。对策是需要准确称量。
- 加样量正常，但样品是代谢旺盛的细胞。对策是适当少加样品。
- 其他原因（如试剂盒问题）。

常见问题3：其他污染

问题、原因及对策

- 样品粘稠：原因是多糖或糖蛋白污染。本产品不能于含多糖的样品（植物，软骨等）。请从本公司另购专门用于这些材料的试剂盒。
- OD260/280低于1.8：蛋白污染。原因是所加样品太多，超过试剂的裂解能力。对策是准确称量。正常比值应该在2.0左右。
- OD260/230低于1.8：有机物污染。原因是酚和氯仿没去除干净。对策是取上清时小心，也可以采取免氯仿操作（本产品提供两种操作方案）。正常值应该在2.0-2.4。
- OD260/240低于1.4：无机盐污染。对策是多洗涤一次。正常值应该1.4左右。

注意：测OD的缓冲液pH必须在7.5-8.5，OD绝对值也必须在仪器的有效范围（比如有效范围是0.1-6，如果测的数值是0.01或10，均为无效数据。

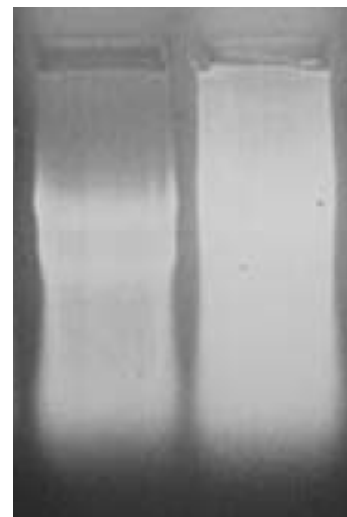
常见问题4：电泳问题

问题

- 电泳条带模糊（见右图）。

原因及对策

- RNA浓度太高。对策是稀释后再跑电泳。



客户发表的文章（部分）

- 1.罗氏沼虾Rab11基因cDNA克隆及其组织表达分析_夏正龙
- 2.携带口蹄疫病毒B细胞表位的兔出血_省略_病毒样颗粒的表达及其免疫原性研究_盛蓉
- 3.三明野生蕉Ran基因克隆及其组织特异性与低温胁迫表达分析_张雅玲
- 4.活骨注射液髌关节腔灌注对兔股骨头_省略_型血管内皮生长因子表达的动态影响_徐西林
- 5.高温胁迫下水稻灌浆初期籽粒的全长cDNA文库构建及其分析_贺超
- 6.表达猪瘟病毒E0_E2基因重组腺病毒疫苗在兔体上的免疫原性分析_张小苗
- 7.RHDVVLPs对口蹄疫病毒B细胞表位的展示效果_胡波
- 8.IGF_1_FGF_b在中药活骨_省略_缺血性股骨头坏死表达变化实验研究_张文进
- 9.榛子产紫杉醇内生真菌Penici_省略_m中GGPP合酶基因的克隆与表达_刘洪伟
- 10.携带双串联卵清蛋白T细胞表位的嵌_省略_出血症病毒衣壳蛋白自聚能力的研究_张燕
- 11.兔出血症病毒衣壳蛋白N端携带双串_省略_蛋白T细胞表位嵌合体的构建与表达_张燕
- 12.唐古特白刺液泡膜Na_H_逆向运_省略_基因NtNHX1的克隆与表达分析_唐欣
- 13.李Ran基因的克隆与生物信息学分析_方智振

上下游关联产品

- | | |
|-----------------------|--------------------------------|
| 1、 miRNAout | 从总RNA中提取小RNA |
| 2、 mRNA提取试剂盒 | 从总RNA种提取mRNA |
| 3、 RACE试剂盒 | 获得RNA两端缺失区域 (分5 RACE和3 RACE两款) |
| 4、 固相RNase清除剂 | 去除环境中的RNase污染 |
| 5、 RNA电泳套装 | 用于RNA电泳分析 |
| 6、 绿如兰核酸染料 | 核酸 (DNA和RNA) 的电泳染色 |
| 7、 RT-PCR试剂盒 | 对RNA进行扩增 |
| 8、 RNase-free Dnase | 去除总RNA中的微量基因组DNA污染 |
| 9、 cDNA合成试剂盒 | 把RNA逆转录成cDNA, 故又叫逆转录试剂盒 |
| 10、 Ribo-SPIA试剂盒 | 将少量RNA扩增上万倍 |
| 11、 非冻型RNA保存液 | 非冻状态下短期保存用于RNA提取的样品 |
| 12、 动物RNAout (TRIzol) | 同进口TRIzol, 非柱式法 |

谢谢!

有问题请电话联系400-8785278或010-62200278