

# 难裂解组织总 RNA 提取技术

## 简介

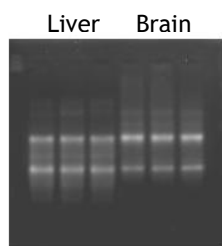
在遗传法则中，生物个体的基因组 DNA 通过转录成 RNA，再通过 RNA 翻译成蛋白质来实现整个生命过程。RNA，特别是 mRNA 作为中间体，有着相当重要的作用，是研究复杂生命现象，病因病理，诊断治疗，基因功能研究的直接对象。目前 RNA 的相关研究已经成为分子生物学中最为主要，最为活泼的项目。从生物样品中分离高纯度高质量的总 RNA 是这些研究项目最为基础的工作。生物体为实现复杂的生命过程，其受精卵会分化成不同的细胞而组成不同的组织器官。这些组织器官无论在形态，结构或生理上的都有明显的差异。从生物样品中分离 RNA 时，关键的第一步就是裂解：将组织分散，细胞裂解，RNA 释放到细胞外并快速保护起来，不受到内源或外源的 RNase 降解。在生物组织样品中，肌肉、皮肤、胃、肠、心脏等，因富含含高分子量的肌纤维而极难裂解，给 RNA 的提取带来了极大的不便。强烈的匀浆打散操作，如液氮研磨，机械匀浆器匀浆或珠磨仪匀浆也很难让这些样品完全裂解，而造成 RNA 得率不高或降解等现象。Magen 公司 HiPure Fibrous RNA Kits 采用硅胶柱纯化方式和蛋白酶辅助消化，可快速地从动物软组织和动物难裂解组织中提取高质量高纯度的总 RNA。该系列采用特殊的溶液体系，确保能高效失活 RNase 的同时，不抑制蛋白酶的活性。难裂解的组织样品经蛋白酶消化，可提取裂解效果，从而提高 RNA 的得率和纯度。整个过程无需接触酚氯仿，也无需用到异丙醇沉淀。30 分钟内就可完成多个样品的抽提工作，处理 96 个样品时只需 2 小时。该系列包括有：

产品	组织量	时间
Fibrous RNA Mini Kit	<20mg	<30 min
Fibrous RNA Plus Mini Kit	<10mg	<120 min

## 实验结果

### ● 从常规样品中提取总 RNA（无蛋白酶 K 消化）

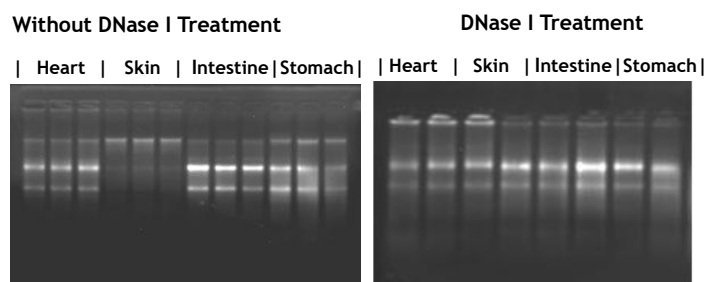
取 10mg 富含蛋白质样品(鸡肝)和富含脂类和糖类样品(鸡脑)，用 Magen Tissue RNA Kit 进行提取，提取后用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳分析(结果如右)和 NaNodrop 2000 进行分析(结果以下)。由结果可知，处理常规的组织样品(软组织)时，该产品可获得理想的结果。



样品	浓度 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	260/280	260/230	Yield/ $\mu\text{g}$
10mg 鸡肝	0.2273	2.12	1.96	45.46
	0.2412	2.11	2.23	48.24
	0.2351	2.11	1.75	47.02
10mg 鸡脑	0.0445	2.15	2.15	4.45
	0.0429	2.18	1.95	4.29
	0.0455	2.13	1.9	4.55

### ● 从难裂解的动物组织中的提取 RNA（无 DNase I 消化）

取 10mg 难裂解的组织样品（鸡心，鸡皮，鸡肠，鸡胃）使用 Magen Tissue RNA Kit 进行抽提。部分样品在抽提流程插入膜上 DNase I 处理以去除 DNA 污染。总 RNA 抽提后用 Nanodrop 2000 和琼脂糖凝胶电泳分析其结果。由于该方案采用了蛋白酶消化，基因组 DNA 也完全被释放出来，在不同 DNase 消化时，得到的 RNA 中基因组 DNA 污染会比较多。经过 DNase 膜上消化后，得到的 RNA 无 DNA 污染。由 OD 值可知，心，皮，胃，肠这些难裂解的样品，其 RNA 得率很高，纯度也高。



Sample	Conc. $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	260/280	260/230	Yield $\mu\text{g}$
<b>Total RNA Isolation (DNase I Treatment)</b>				
heart	0.1062	2.13	1.95	10.62
	0.0935	2.13	1.72	9.35
Skin	0.0652	2.05	1.81	6.52
	0.0763	2.06	1.82	7.63
intestine	0.3947	2.14	2.25	39.47
	0.3485	2.14	2.28	34.85
stomach	0.2885	2.14	2.23	28.85
	0.2896	2.14	2.26	28.96