

从样品中同时分离 DNA 和 RNA

简介

自从 DNA 双螺旋结构发现以来，核酸就成为了生物学的研究重点，并产生了以 DNA 和 RNA 为主要研究对象的分子生物学学科。从样品中分离出高纯度高质量的核酸是下游实验顺利进行的最重要的前提。DNA 和 RNA 纯化技术主要包括酚氯仿抽提法[1]，离子交换法，盐析法，玻璃奶法和硅胶柱法等，但是这些方法往往只能提取出其中一种核酸而浪费另一种核酸。当样品比较有限时，我们常常需要将同一种样品中的 DNA 和 RNA 都分别提取出来。从同一样品中同时提取 DNA 和 RNA 方法并不多。Karlinsey J (1989) [2]首先采用酚抽提和 LiCl 方法从真核细胞中同时抽提 DNA 和 RNA，但是该方法操作烦琐还需要用到超速离心机，并没有得到广泛运用；Chomczynski (1993) [3]将一步法 RNA 提取方法进行改良 (Trizol Reagent)，使用一种溶液抽提即可分别纯化 DNA，RNA 和蛋白质，但是使用该方法获得的 DNA，纯度低，极难溶解（需要在 8mM NaOH 溶液中才能溶解），而且 DNA 片段断裂比较严重，只有 10Kb 左右，很难满足下游的实验要求。Magen 公司 AllPure Kits 系列产品采用硅胶柱纯化技术，可快速高效地从一个生物样品中同时分离得到 DNA、总 RNA 和蛋白质。AllPure DNA/RNA Kits 适合于从组织样品和培养细胞中同时提取 DNA 和 RNA。整个操作过程中，不需要使用酚氯仿抽提和耗时的乙醇或异丙醇沉淀，完成数个样品的 DNA 和 RNA 抽提工作只需 30 分钟。纯化的 DNA 和 RNA 可直接用于各种下游应用。该产品系列包括：

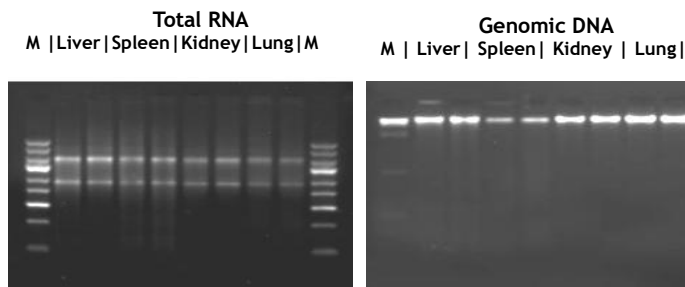
名称	样品类型
AllPure DNA/RNA Kit	动物软组织和细胞
AllPure DNA/RNA Micro Kit	动物软组织和细胞
AllPure DNA/RNA 96 Kit	动物软组织和细胞
AllPure Fibrous DNA/RNA Kit	难裂解组织样品
AllPure FFPE DNA/RNA Kit	石蜡包埋组织样品
AllPure Plant DNA/RNA Kit	植物样品
AllPure DNA/RNA/Protein Kit	动物软组织和细胞
AllPure RNA/Protein Kit	动物软组织和细胞
AllPure RNA/Nature Protein Kit	培养细胞

与 Trizol 的性能相比

	Trizol Reagent	AllPure Kits
RNA 抽提时间	1 小时	20 分钟
DNA 抽提时间	1 小时，溶解过夜	15 分钟，即用
蛋白质	40 分钟	30 分钟
总时间	3 小时	50 分钟
毒性	酚氯仿抽提，毒性强	安全，无毒
RNA 纯度	高, A260/280 > 1.9	高, A260/280 > 1.9
DNA 纯度	低, A260/280 < 1.6	高, A260/280 = 1.8
DNA 完整性	差, < 10kb	好, 20-60kb
DNA 得率	低	中

1. 从常规样品提取同时提取 DNA 和 RNA

取 10mg 常规的组织样品(鸡肝, 鸡肾, 鸡脾, 鸡肺), 用 AllPure DNA and RNA Kit 进行提取, 提取后取 1ug 的总 RNA 用 1.0% 琼脂糖凝胶电泳分析, 取 2% 基因组 DNA 用 0.8% 琼脂糖凝胶电泳析结果 (结果如下)。由电泳图可知, 使用试剂盒得到的 RNA 不降解, 得到的 DNA 片段完整, 无拖尾现象。Lambda DNA/Hind III Marker 表明, 得到的 DNA 片段在 23KB 以上左右。

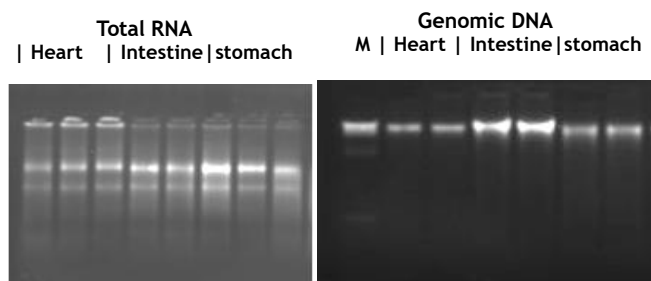


取纯化的 DNA 和 RNA 用 Nanodrop 2000(Thermo Fisher) 进行紫外分光光度计分析(结果以下)。结果表明, 使用 HiPure DNA/RNA Kit 得到的 RNA 和 DNA 纯度高, 其 OD260/OD280 以及 OD260/230 都在理想的范围内。由产量可知, 10mg 肝脏的总 RNA 含量达到 43ug, DNA 含量高达 14ug, 两个重复样品之间重复性好, 产量均一。

样品	浓度 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	260/280	260/230	产量 μg
Total RNA Isolation				
鸡肝	0.219	2.1	1.98	43.8
	0.205	2.11	1.72	41
鸡肾	0.0634	2.16	2.41	12.68
	0.0629	2.15	2.47	12.58
鸡脾	0.0698	2.11	1.27	13.96
	0.0654	2.09	2.18	13.08
鸡肺	0.0294	2.15	1.85	5.88
	0.029	2.13	1.74	5.8
Genomic DNA Isolation				
鸡肝	0.1493	1.96	0.55	14.93
	0.137	1.96	0.44	13.7
鸡肾	0.5159	1.94	1.44	51.59
	0.4116	1.94	1.78	41.16
鸡脾	0.1934	1.9	2.3	19.34
	0.2502	2.13	2.3	25.02
鸡肺	0.1208	1.89	2.76	12.08
	0.1279	2.1	2.44	12.79

2. 从富含纤维素样品中同时提取 DNA 和总 RNA

取 10mg 难裂解动物组织样品(鸡心, 鸡皮, 鸡肠, 鸡胃), 用 AllPure Fibrous DNA/RNA Kit 进行提取。提取后取 1ug 的总 RNA 用 1.0%琼脂糖凝胶电泳分析, 取 5%基因组 DNA 用 0.8%琼脂糖凝胶电泳分析结果 (结果如下)。由电泳图可知, 使用试剂盒得到的 RNA 不降解, 得到的 DNA 片段完整, 无拖尾现象。Lambda DNA/Hind III Marker 表明, 得一的 DNA 片段在 23KB 左右。

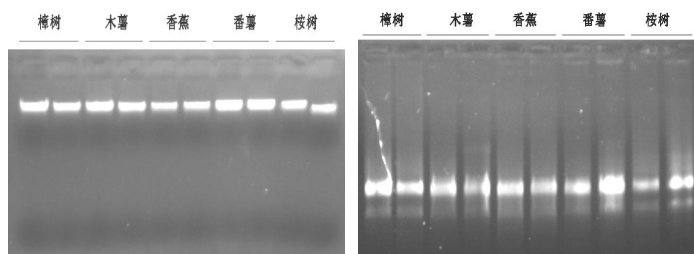


取纯化的 NaNodrop 2000 进行分析(结果以下)。由电泳图可知, 使用试剂盒得到的 RNA 和 DNA 是完整的。Nanodrop 2000 的数据分析结果, 使用该方法得到的 DNA 和 RNA 纯度高, 可适合于各种下游应用。

Sample	Conc. $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	260/280	260/230	Yield μg
Total RNA Isolation				
heart	0.1062	2.13	1.95	10.62
	0.0935	2.13	1.72	9.35
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
Genomic DNA Isolation				
heart	0.0291	1.96	1.74	2.91
	0.0103	2.28	5.51	2.06
intestine	0.1299	1.91	2.07	12.99
	0.1229	1.91	2.12	12.29
stomach	0.0685	1.87	2.22	6.85
	0.0625	1.87	0.55	6.25

3. 从植物样品同时提取 DNA 和总 RNA

取 100mg 植物样品(樟树叶片、木薯叶片、香蕉叶片、番薯叶片、按树叶睡), 用 AllPure Plant DNA/RNA Kit 进行提取。提取后取 1ug 的总 RNA 用 1.0%琼脂糖凝胶电泳分析, 取 5%基因组 DNA 用 0.8%琼脂糖凝胶电泳分析结果 (结果如下)。由电泳图可知, 使用试剂盒得到的 RNA 不降解, 得到的 DNA 片段完整, 无拖尾现象。



(Genomic DNA)

(Total RNA)

取纯化的 NaNodrop 2000 进行分析(结果以下)。Nanodrop 2000 的数据分析结果, 使用该方法得到的 DNA 和 RNA 纯度高, 可适合于各种下游应用。

样品	浓度 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	260/280	260/230	Yield μg
Genomic DNA				
樟树	0.0414	1.88	1.84	6.2
木薯	0.0409	1.78	0.39	6.1
香蕉	0.0216	2.02	0.15	3.2
番薯	0.0249	2.05	1.56	3.7
桉树	0.0266	1.62	0.18	3.9
Total RNA				
樟树	0.2607	2.2	2.26	20.8
木薯	0.9132	2.19	2.09	73.0
香蕉	0.5272	2.2	1.84	42.1
番薯	0.3495	2.22	1.32	27.9
桉树	0.1744	2.18	2.13	13.9