

Carrier RNA

Cat No: MB-CRNA-1dry/1/6/30

说明书

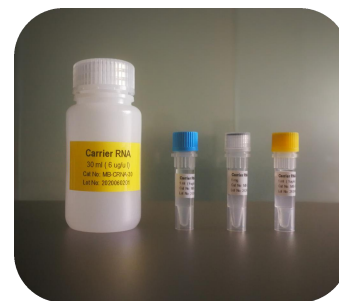
Version 1.2

成都诺恩基因科技有限公司

● 产品:

| 货号 | 规格 | 价格 |
|--------------|-----------------|---------|
| MB-CRNA-1dry | 1 mg (干粉) | ¥ 230 |
| MB-CRNA-1 | 1 ml (1 ug/ul) | ¥ 210 |
| MB-CRNA-6 | 1 ml (6 ug/ul) | ¥ 650 |
| MB-CRNA-30 | 30 ml (6 ug/ul) | ¥ 18000 |

● 产品介绍:



本品是片段在 120nt - 2900nt 之间的 RNA 混合物，溶解于 miRbay™ RNA 保护液中，-20℃冰箱中液态保存，无需解冻，直接使用。加入 10%体积，不影响逆转录效率。在酸苯酚法或核酸柱纯化体系中添加 Carrier RNA，可提高 10 倍以上微量核酸的回收效率。本品 **miRNA-Free**、**DNase-Free**、**RNase-Free**。如果不需要 RNA 保存液，本品可以无菌水为介质，订购时请说明。

● 保存条件及有效期: -20℃, 2 年; 2 - 8℃ 四周; 室温 1 周; 4 - 8℃ 运输。

● 使用方法:

在酸酚法或柱纯化微量样本核酸的过程中，如 miRNA 纯化、病毒 RNA 纯化、病毒 DNA 纯化及微量 DNA 提取等实验，微量的核酸不能被有效地沉淀，或在纯化柱上的结合和洗脱效率低，导致不能回收到足够的核酸模板，最终使检测失败。在核酸纯化体系中添加 Carrier RNA，可提高 10 倍以上微量核酸回收率，同时，由于 Carrier RNA 的存在，还可减少容器对目标 RNA 的吸附、以及核酸酶对微量目标 RNA 的降解几率。Carrier RNA 是 miRNA 和微量 RNA 纯化中不可缺少的组成成份。在微量核酸纯化体系的

裂解液中,用户可以在 1 - 5 μ l Carrier RNA 范围内选择适合的用量。获得含有 Carrier RNA 的微量核酸可直接用于 PCR 反应、或 RT-PCR 反应。

● 质量控制:

本品对符合外观、纯度和浓度要求的批次,以 1/500 的比例抽检,进行电泳检测和 qPCR 反应效率抑制试验。本品 95% 片段在 120nt 以上。

本品对 PCR 反应效率的影响

本品对实时荧光 PCR 效率影响测试,通过特殊设计的

PCR 引物: LS2781/LS2782, 在 qPCR 反应中高效产生独特扩增片段。实时 PCR 反应中,加入本品,检测对 qPCR 效率的影响。

主要设备: Bio-Rad, CFX96, C1000

待测物: Carrier RNA, 1 μ g/ μ l。

溶剂对照: RNA 保护液。

实时荧光 PCR 反应设置:

1. 20 μ l PCR mix + 1 μ l RNA 保护液 + 4 μ l H₂O
2. 20 μ l PCR mix + 1 μ l Carrier RNA + 4 μ l H₂O
3. 20 μ l PCR mix + 3 μ l RNA 保护液 + 2 μ l H₂O
4. 20 μ l PCR mix + 3 μ l Carrier RNA + 2 μ l H₂O
5. 20 μ l PCR mix + 5 μ l H₂O

● 应用实例:

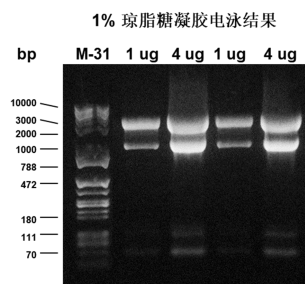
Carrier RNA 对微量胎牛血清中 miRNA 核酸纯化效率的影响

实验目的: 验证添加 Carrier RNA 对微量样本 miRNA 核酸纯化回收效率的影响。

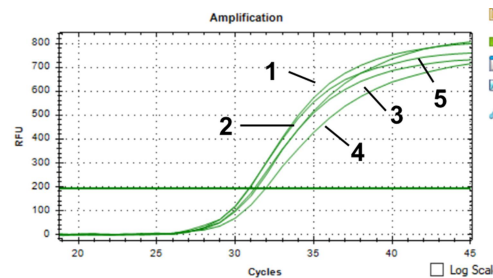
主要试剂: Trizol LS Reagent (Life Tech)、Carrier RNA(诺恩基因)、胎牛血清 (Life Tech), miR-126/122/192-miRFLP 微核酸检测试剂 (诺恩基因)。

主要设备: ABI3730xl 荧光毛细管电泳仪、耶拿 PCR 仪、超声水浴锅。

实验方法: 1. 根据 Trizol 试剂盒说明书的操作步骤,按照下列方案进行操作,提取胎牛血清总 RNA。纯化的 RNA 溶解于 10 μ l RNase-free 蒸馏水。



实时荧光 PCR 扩增结果:



加入 3 μ l Carrier RNA, 循环数差异小于 0.5。

表 1: 用 Trizol LS 试剂提取 10 ul 胎牛血清样本 RNA

| | | |
|--------------|------------|------------|
| 试验编号: | 1 | 2 |
| Trizol: | 250 ul | 250 ul |
| Carrier RNA: | 0 ng | 25,000 ng |
| 生物样本: | 10 ul 胎牛血清 | 10 ul 胎牛血清 |

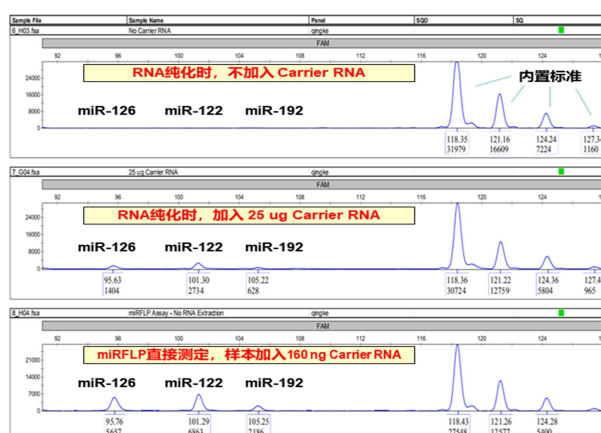
2. 对纯化的 RNA 样本 1、及 RNA 样本 2 ， 以及 1 ul 胎牛血清进行 miRFLP 检测，

表 2: 胎牛血清及等量血清样本纯化出的 RNA 中 miRNA 定量检测

| | Carrier RNA 添加量 (ng) | | 1 ul 胎牛血清中 miRNA 含量测定值 (拷贝数) | | |
|---|----------------------|-------|------------------------------|---------|---------|
| | 核酸提取步骤 | 逆转录反应 | miR-126 | miR-122 | miR-192 |
| 1 | 无 | 125 | — | — | — |
| 2 | 25,000 | 125 | 2540 | 2178 | 159 |
| 3 | 无提取步骤 | 125 | 12822 | 13548 | 1783 |

测定 miR-126/miR-122/miR-192 的含量， 结果如下：

3. miRFLP 测定图谱：



4. 讨论与分析：未加 Carrier RNA 的 1 号样本中，完全没有测到 miRNA 信号。因为上样量很少，仅 10 ul 血清，各个提纯步骤中 RNA 丢失、沉淀不完全、以及管壁吸附等原因增加 RNA 回收难度。加入 25 ug Carrier RNA，使 RNA 回收率大幅提高。但与不经提纯步骤的 3 号样本检测结果相比，回收率在 9%-20% 的范围内。说明加入 Carrier RNA，可以大幅提升微量核酸回收效率。

法律声明：

miRbay™、及 RNA 保存液权属成都诺恩基因科技有限公司，并受到专利保护 - “一种 RNA 保存液、包含该保存液的试剂盒及其应用 - ZL201410077725”，侵权必究。

仅供科研使用