



創世紀生技有限公司

Bio-Genesis Technology

RNA 純化套組專刊

RNA 純化淺談	P.1 - P.3
From 細胞、組織、細菌	
▶ RNA-Bee	P.4
▶ MasterPure™ Complete DNA and RNA Purification Kit	P.5 - P.6
▶ NucleoSpin® RNA II	P.7 - P.8
▶ NucleoSpin® RNA L	P.9
From 單一細胞、LCM sample	
▶ NucleoSpin® RNA XS	P.10
▶ ArrayPure™ Nano-scale RNA Purification Kit	P.11
From 酵母菌、菌絲體	
▶ MasterPure™ Yeast RNA Purification Kit	P.12
Small RNA Application	
▶ NucleoSpin® miRNA	P.13 - P.14
From 植物組織	
▶ NucleoSpin® RNA Plant	P.15 - P.16
▶ MasterPure™ Plant RNA Purification Kit	P.17
From FFPE sample	
▶ WaxFree™ RNA	P.18
▶ NucleoSpin® FFPE RNA	P.19 - P.20
▶ QuickExtract™ FFPE RNA Extraction Kit	P.21
快速萃取	
▶ QuickExtract™ FFPE RNA Extraction Kit	P.21
▶ QuickExtract™ RNA Extraction Kit	P.22
mRNA Isolation	
▶ NucleoSpin® mRNA Mini、Midi	P.23
▶ mRNA-ONLY™ Prokaryotic/Eukaryotic mRNA Isolation Kit	P.24
RNA Clean-Up	
▶ NucleoSpin® RNA Clean-Up、RNA Clean-UP XS	P.25 - P.26
其他相關產品	
▶ NucleoSpin Triprep(可純化 RNA/DNA/Protein)	P.27
▶ NucleoSpin RNA/Protein	P.28
▶ NucleoSpin RNA/Protein	P.29

RNA 純化淺談

李宏仁

RNA 的萃取與純化一直是分子生物實驗中的重要課題，主要的原因是 RNA 的半衰期非常的短，即使保存在 -80°C 冰箱依然容易斷裂及衰減；而且扮演分解 RNA 關鍵角色的 RNase 非常的穩定且存在於空氣、溶液及實驗器材表面，使得萃取的 RNA 更加不易保存。因此，如何縮短 RNA 萃取與純化時間避免操作過程遭受 RNase 污染，並且維持所獲得的 RNA 完整性，一直是所有 RNA 純化萃取套組(RNA extraction kit)最主要的課題。

傳統的 RNA 萃取方法，是使用 Guanidinium thiocyanate 抑制 RNase 的活性，並搭配有機溶劑 phenol-chloroform (pH=4.5) 萃取 RNA；而目前市面上常使用的 single reagent (ex: RNAzol Bee) 也是跟依據此原理所製作。Single reagent 不但能夠有效的移除蛋白質、酯類、細胞碎片等影響 RNA 純度的物質，也可以將溶解於 single reagent 的樣品保存於 -80°C (< 1 month) 待 RNA 實驗前再進行 RNA 萃取，但是對於 RNA 萃取的初學者來說，由 single reagent 吸取上層 RNA 溶液時常會同時吸取到中間層，造成 RNA 被 genomic DNA 影響導致後續實驗誤判或失敗，且操作過程會接觸 phenol-chloroform 等有毒物質。

如果你需要更簡易的操作流程、更好的 RNA 完整性及品質、又不想接觸有機溶劑，你可以選擇使用 RNA 萃取套組。

目前創世紀生技公司所提供的 RNA 萃取套組分為兩種形式：一類是以 silica column 為主的 RNA 萃取套組；另一類是由傳統法所改良的溶液萃取方法，但是操作過程中不使用有機溶劑。以上兩類的 RNA 萃取套組，皆針對不同型式的樣本推出不同的解決方案。

Silica column 是市面上最常見、也是最方便的核酸萃取方式。其原理是利用 silica 帶正電、核酸帶負電使核酸留在 silica column 中，而 RNA 萃取套組在這個步驟使用 DNase I 將 genomic DNA 分解成小片段，再使用含有一定比例酒精的 wash buffer 清除短片段核酸及蛋白質，最後就能得到高品質的 RNA。Silica column 能夠吸附的 RNA 片段大小及產量皆取決於 column 的材質，因此選擇 silica column 的 RNA 萃取套組時，一定要注意 column 的 nucleotide fragment size 及 binding capacity 這兩個數據，才不會選擇到不適合的產品唷！！！！



Epicentre 的 MasterPure RNA extraction kit 系列是 silica column 以外的另一種選擇。MasterPure 是使用 lysis buffer 與 proteinase K 處理樣品，再以 isopropanol 將所有的 nucleotide 沈澱並以 RNase-Free DNase I 分解殘留的 DNA，最後的得到 total RNA。與 silica column 不同的是，MasterPure 能萃取各種長度的 RNA，即使是 <200bp 的 small RNA 也能萃取。此外，Epicentre 還有 QuickExtract RNA 系列，可應用於 RT-PCR 快速篩檢。

RNA 的保存

除了長期保存之外，一般並不建議將 RNA 溶於 TE buffer，避免 TE buffer 中的 EDTA 干擾後續 RNA 相關實驗。一般建議是將純化的 RNA 溶解在 DEPC-treated water 或是 nuclease-free water，並置於 -80°C 保存；即使如此，RNA 的保存性依然不佳，最大的原因還是環境中游離的 RNase 還是會由空氣進入，造成 RNA 裂解，因此我們建議在保存 RNA 時還是要加入 RNase inhibitor (ex: RiboGuard RNase inhibitor)，才能保護得來不易的 RNA。

RNA 品質的測定

RNA 在進行後續各類相關實驗之前，都必須先進行 RNA 品質測定。由於 RNA 的樣品量、純度、以及 RNA 片段的完整性都影響著後續實驗的結果，判斷 RNA 品質的好壞為影響實驗的重要因素。

一般判斷 RNA 品質的方法如下：

1. 吸光值測定：

一般測定 RNA 所使用的吸光值分別為 230nm、260nm 及 280nm，其中 260nm 是測量核酸濃度（包括 DNA 及 RNA），280nm 是測量蛋白質濃度，230nm 數值則是有機鹽類的殘留量。A260 數值可帶入公式計算出 RNA 濃度 (RNA concentration = A260 x dilution fold x 40 ng/ul)，而 RNA 理想的 A260/A280 ratio 應介於 1.9~2.1 之間，A260/A230 ratio 應介於 2~2.4 之間；若 A260/A280 低於 1.9，代表 sample 內殘留了過多的蛋白質。

以上的數值當然可以當作是 RNA 品質的依據，但是這些數據並不能反映 RNA 片段是否完整，即使是單一的核酸也能夠得到 A260 數值，因此吸光值測定還得配合核酸電泳才能夠判斷 RNA 品質的好壞。

2. 核酸電泳

核酸電泳也是判斷 RNA 品質的常用方法之一，除了可以確認 sample 是否被 genomic DNA 污染以外，也可直接觀察 rRNA 的亮度比例及其他 RNA 的亮度，作為 RNA 是否被分解的依據。

進行 RNA 核酸電泳時必須注意的是，所有的器材與藥品都必須是 RNase-Free，以避免 RNase 分解進行電泳中的 RNA 而造成誤判；另外要注意的是 RNA 為 single-strand nucleotide，核酸染劑必須先加在電泳膠中才能染上 RNA。如果只是想觀察 rRNA 的亮度比例，可使用 0.5x TBE 配合 agarose gel 進行電泳；若要確認正確的 RNA size，則必須使用含有 formaldehyde 的 denature agarose gel。



3. RNA Integrity Number (RIN)

RNA Integrity Number 用來判斷 RNA 完整度的新技術，主要是使用毛細管電泳分離 RNA，並依據毛細管電泳的結果分析 RNA 在各區間的比例，並使用專用分析儀器轉換為 RIN。RIN 的數據分佈為 1~10，數字越大代表 RNA 完整度越高，且此數據有相當的指標性意義。

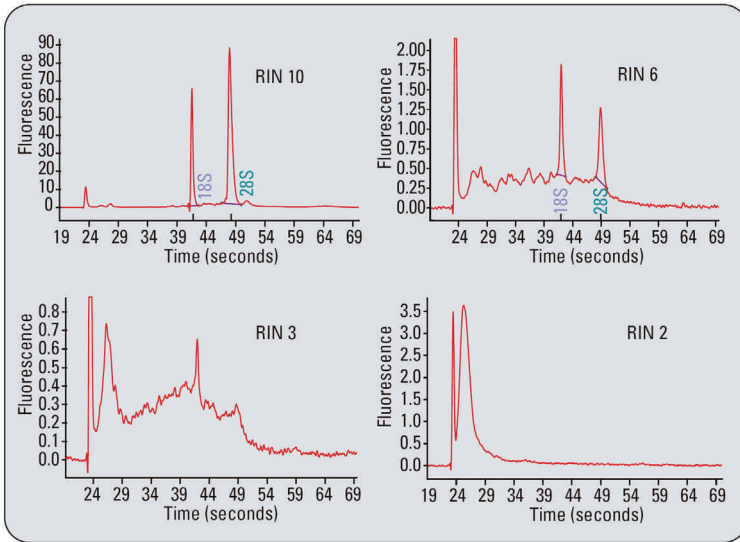


Fig.1 RNA Integrity Number (RIN)軟體分析範例說明

Total RNA 品質最好的為 RIN 10，品質最差的為 RIN 2。在 RIN 10 的 sample 中可看到 18S 及 28S 的 rRNA 片段相當完整；而隨著 RIN 的下降 rRNA 片段化，小片段的 RNA 也跟著增加，當 RIN 2 時已看不到 rRNA 的位置，所有的 RNA 幾乎被分解為短片段的 RNA。

RNA 相關實驗建議使用的 RIN 數值

RIN Value	Most Suitable Application
1 ~ 4	PCR assays with short region of amplification
4.1 ~ 6.9	qRT-PCR applications
7~10	Highly demanding gene array assays

如何選擇適合的 RNA 萃取套組??

A. 該選擇 *silica column* 還是 *solution method*?

希望操作步驟簡單，又可以得到產量穩定的 RNA → *silica column*

希望能盡可能得到最多的 RNA → *solution method*

B. 針對不同的樣品做選擇

動物細胞、動物組織、細菌 → RNA Bee、NucleoSpin RNA II or MasterPure RNA purification kit

單一細胞或是微量動物組織 → NucleoSpin RNA XS or ArrayPure Nano-Scale RNA purification kit

植物組織 → NucleoSpin Plant or MasterPure Plant purification kit

FFPE sample → NucleoSpin FFPE or QuickExtract FFPE RNA extraction kit

C. 根據後續應用做選擇

miRNA assay → NucleoSpin miRNA

快速篩檢 → QuickExtract RNA extraction kit

RNA Clean-Up → NucleoSpin RNA Clean-Up or RNA Clean-Up XS

mRNA isolation → NucleoSpin mRNA Mini or mRNA Midi

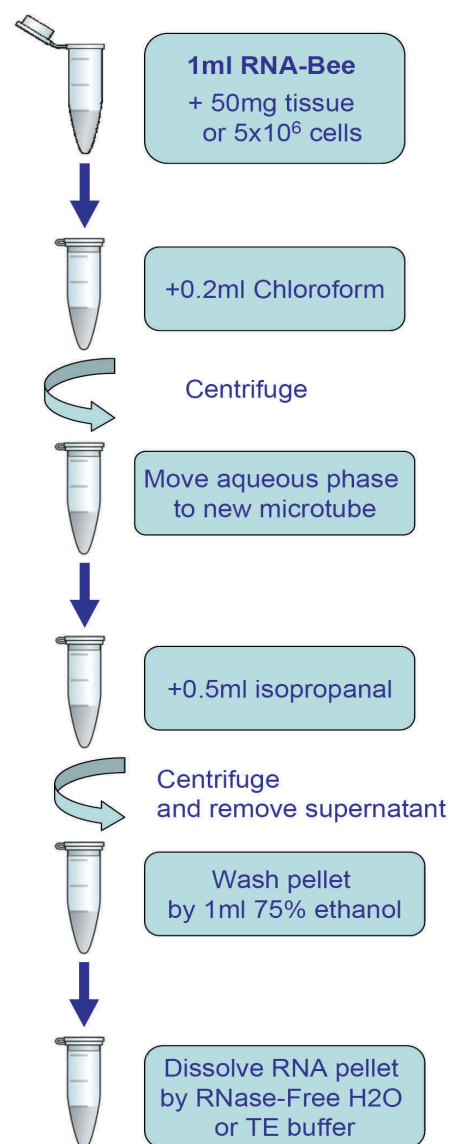
- single reagent RNA 萃取方式，操作時間只要 1 小時。
- 內含藍色指示劑，有利於操作有機層/水層分離步驟。
- 1ml RNA-Bee 可以純化 50 mg 組織、 5×10^6 的細胞、100 μ l whole blood 或 10^9 的細菌細胞，可適用於動物組織、植物組織、細胞、血液、細菌等樣品。
- 可搭配 MN NucleoSpin RNA Clean-up or NucleoTrap mRNA 做進一步純化。

Traditional RNA Isolation



RNA-Bee 是一種內含 phenol 及 guanidine thiocyanate 的 single reagent。生物樣品先混合 RNA-Bee 進行均質 & 溶解，並加入 chloroform 後分為有機層/水層。以離心方式將有機層/水層完全分離，並有效移除 DNA 與蛋白質。此時水層中含有完整的 RNA，加入 isopropanol 以離心方式沈澱 RNA，並使用酒精清洗沈澱物，最後 RNA pellet 溶解在 RNase-Free water 中於 -70°C 保存。此時得到的 RNA 可適用於 reverse transcription、RT-PCR、Northern Blot 及其相關的分子生物實驗。

RNA-Bee easy protocol



Ordering Information

產品名稱

包裝

產品編號

Tel-Test RNA-Bee

200ml

LB-CS-105B

- ▶ 只要 30min 就能萃取 TNA，60min 就能萃取 total RNA 且不需使用 column。
- ▶ 不需使用 phenol、chloroform 等有毒有機溶劑。
- ▶ 所有大小 (include <200 base) 的核酸都會被萃取下來，沒有 binding size 的問題。
- ▶ 可應用於 PCR, RT-PCR, cloning, sequencing, Northern and Southern blotting, restriction analysis, and genomic library preparation 等相關實驗。

MasterPure™ Complete DNA and RNA purification kit 為高效能核酸純化套組，能夠萃取 total nucleic acid (TNA)、DNA 及 RNA，並適用於各種生物樣本。MasterPure 是使用沈澱方式將核酸沈澱，能得到大量的核酸，即使是不同來源的樣本，依然可以得到高純度、高產量的核酸。TNA 經過 DNase I 處理可得到高純度 total RNA；經 RNase A 處理可得到 genomic DNA，客戶不需分別選購 RNA 及 gDNA kit。

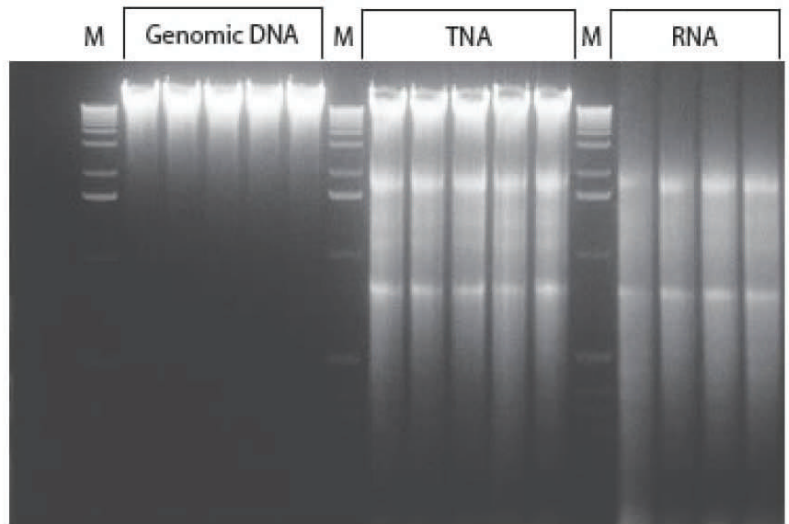
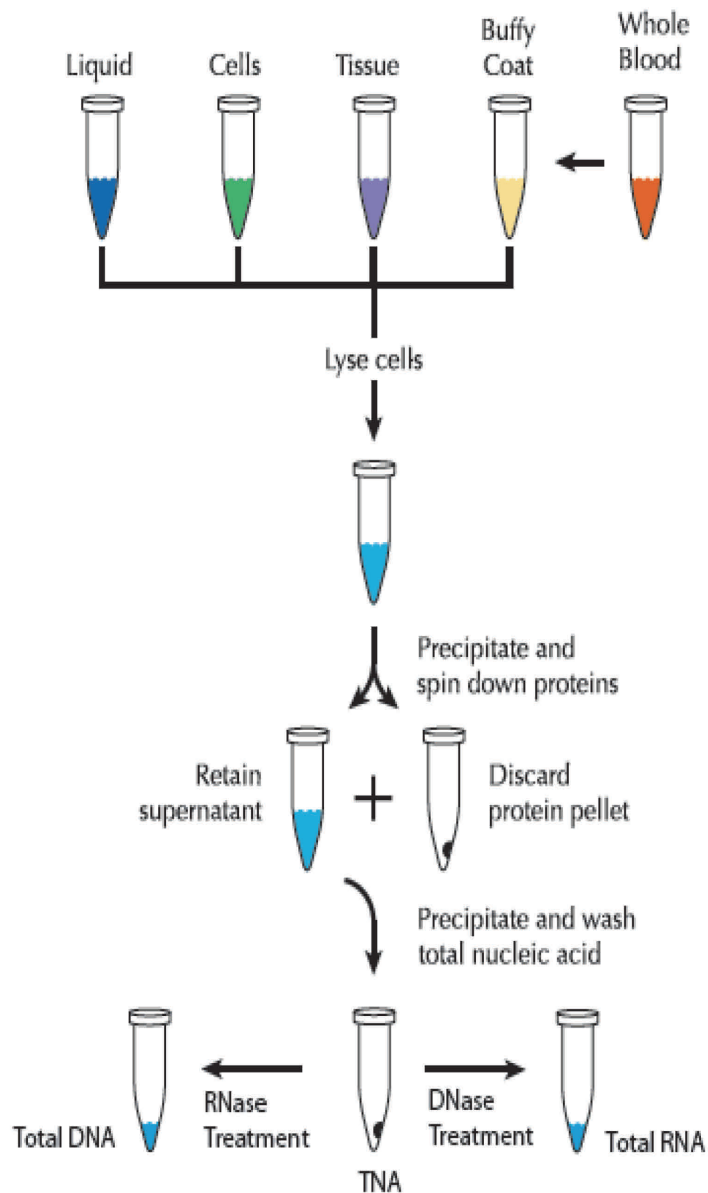


Fig.1 由 5 個不同的冷凍 Bovine liver sample 分別萃取 genomic DNA (Lane1-5)、TNA (Lane 6-10)、RNA (Lane 11-15) 的電泳結果。本圖可說明 MasterPure™ Complete DNA and RNA Purification Kit 在每次核酸萃取過程皆能得到一致的結果。

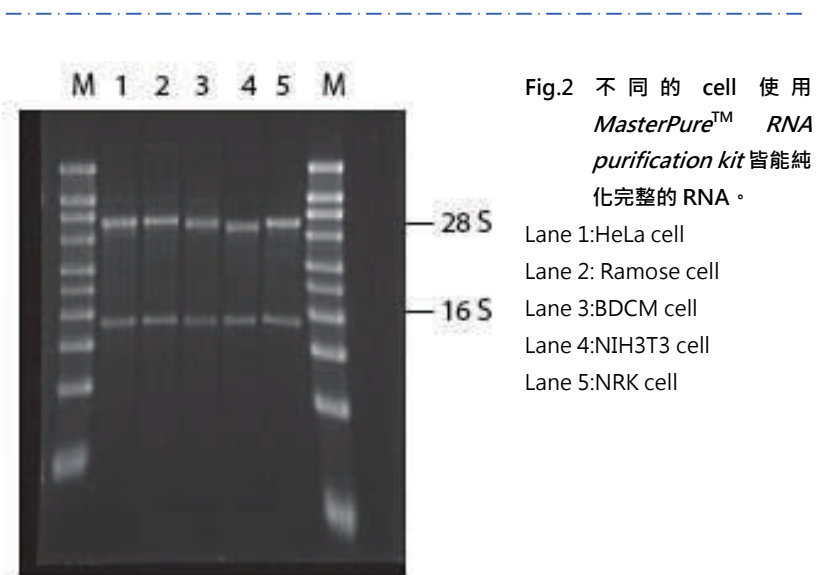


Fig.2 不同的 cell 使用 MasterPure™ RNA purification kit 皆能純化完整的 RNA。
Lane 1: HeLa cell
Lane 2: Ramose cell
Lane 3: BDCM cell
Lane 4: NIH3T3 cell
Lane 5: NRK cell

MasterPure™ Complete DNA and RNA purification kit 簡易操作流程

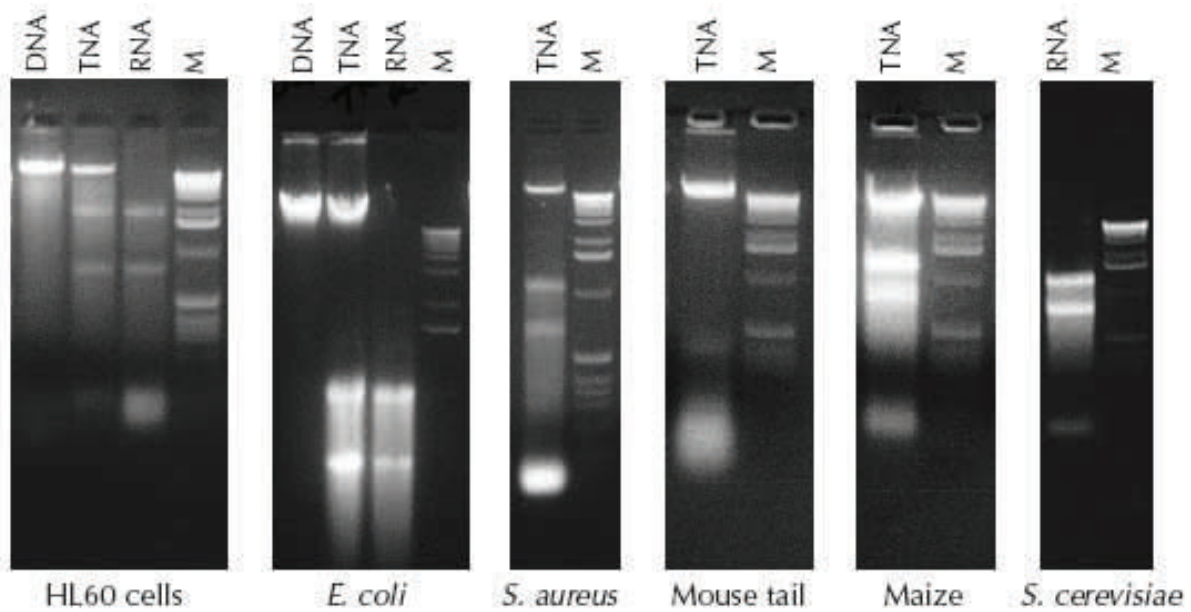


Fig.3 使用 MasterPure 可適用於各種 sample。(M= 1kb ladder)

Targets	Samples Extracted
Human & mammalian RNA & genomic DNA	Plasma
HIV	Whole blood
HCV	Guthrie cards
RSV	Buccal cells
HPV	Liver
Yeast	Mouse tail
Enterovirus	Kidney
<i>B. pertussis</i>	Saliva
<i>E. coli</i>	Urine
<i>M. tuberculosis</i>	Sputum
Streptococcus mutans	Tissue-culture cell lines
Soy (tofu)	Cervical cells
Maize	Paraffin-embedded tissues
Insect tissues	

Table.1 如上圖，MasterPure™ Complete DNA and RNA purification kit 適用的樣本

Table.2 如右圖，各種樣品使用 MasterPure™ Complete DNA and RNA purification kit 得到的核酸純化結果。

Sample	Sample Size	TNA (µg)	DNA (µg)	RNA (µg)
HeLa/HL60 cells	1 X 10 ⁶ cells	10-30	3-12	7-15
Tissues				
Liver	5 mg	33-42	5-10	13-25
Brain	5 mg	9-13	6-9	4-11
Heart	5 mg	6-10	4-7	4-5
Kidney	5 mg	10-17	3-8	14-17
Thymus	5 mg	15-30	6-12	9-18
Blood	200 µl	3-10	3-9	
Buffy coat	300 µl	40-55	40-55	3-6
Mouse tail	0.5 cm	25-30	9-11	
<i>E. coli</i>	3.5 x 10 ⁶ cells	2.5-2.8	1.3-1.6	1.6-1.8
<i>S. mutans</i>	1.5 ml	0.9		
Yeast (<i>S. cerevisiae</i>)	2.2 x 10 ⁶ cells			11-18
	1.1 x 10 ⁷ cells			70-78

Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
MasterPure™ Complete DNA and RNA Purification Kit	For 10 gDNA or 10 TNA or 5 RNA purifications	MC89010
	For 200 gDNA or 200 TNA or 100 RNA purifications	MC85200
MasterPure™ RNA Purification Kit	100 RNA purifications	MCR85102
MasterPure™ DNA Purification Kit (for isolating TNA or DNA)	200 gDNA or 200 TNA purifications	MCD85201

- 使用 NucleoSpin Filter 去除細胞碎片及 RNase-Free DNase 去除 column 中的 genomic DNA，避免 DNA 及細胞碎片影響後續實驗。
- 能萃取細胞、組織、細菌(G+/G- bacteria)、酵母菌及體液中的 RNA。
- 操作過程中不使用 phenol/chloroform 等有機溶劑。
- 只要 30 分鐘就能得到高品質的 total RNA。

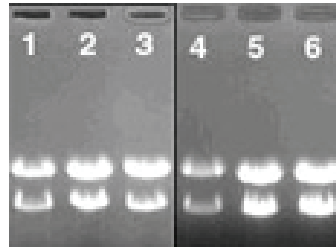
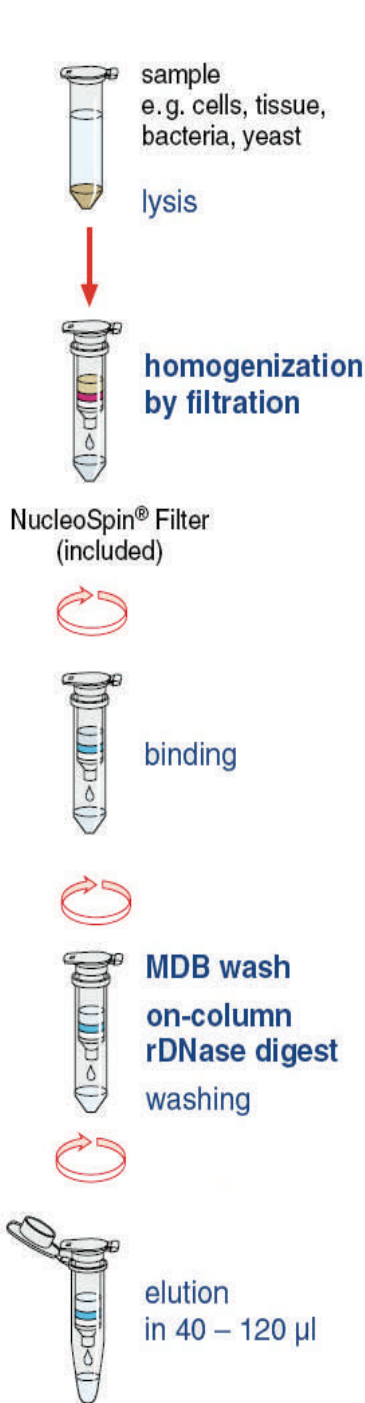


Fig.1 針對不易打破的菌種依然能得到高品質的 Total RNA

1.2ml LB cultured *Pseudomonas putida* (OD₆₀₀=0.9) 離心後分別以 0.05mg/ml (1&4), 0.2mg/ml (2&5) and 0.8mg/ml (3&6) lysozyme 37°C 處理 10min 再以 NucleoSpin RNA II 萃取 total RNA 每組取 6ul total RNA 以 1.2% formaldehyde gel 分離。A_{260/280} 平均值為 2.1。

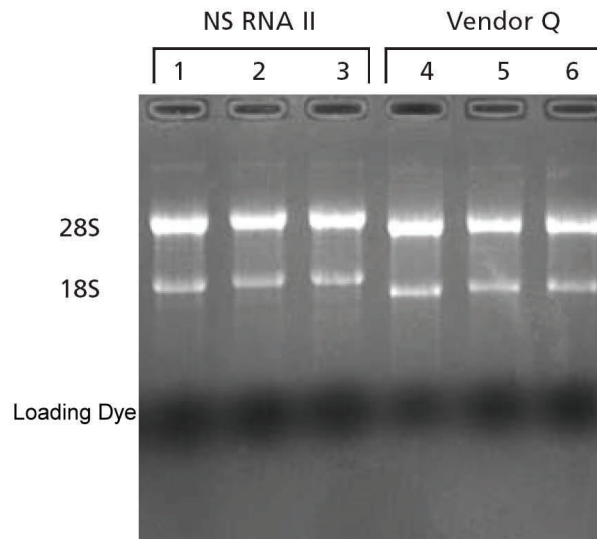


Fig.2 MN NucleoSpin[®] RNA II 與 Q 牌的比較

Total RNA 是由 10⁶ HeLa cells 分別使用 MN NucleoSpin[®] RNA II (Lane 1-3) 及 Q 牌 RNA kit (Lane 4-6) 進行萃取，最後 elute 體積為 50ul，各取 10ul 以 1.2% Formaldelhyde gel 進行分析。

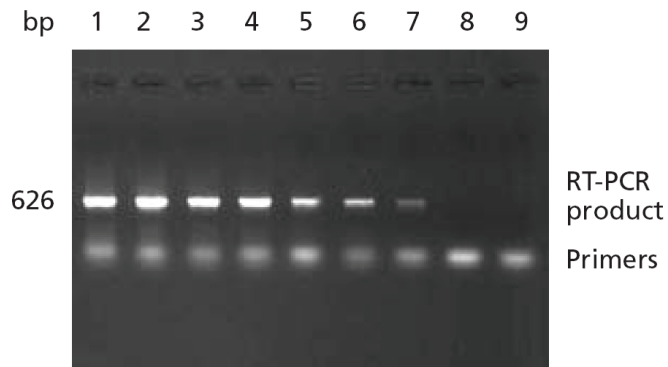


Fig.3 (如左圖) MN NucleoSpin[®] RNA II 能由 10 cells 萃取 total RNA 且適用於 RT-PCR

使用 MN NucleoSpin[®] RNA II 分別由 10⁵, 10⁴, 10³, 330, 100, 33, 10, 3 及 0 個 HeLa cell 萃取 total RNA (Lane 1~9) 並取 3ul total RNA 以 b-actin primer 進行 RT-PCR 最後取 15ul 以 1.2% agarose gel 分析，即使只有 10 個 HeLa cells，NucleoSpin RNA II 依然能萃取適用於 RT-PCR 使用的 total RNA。

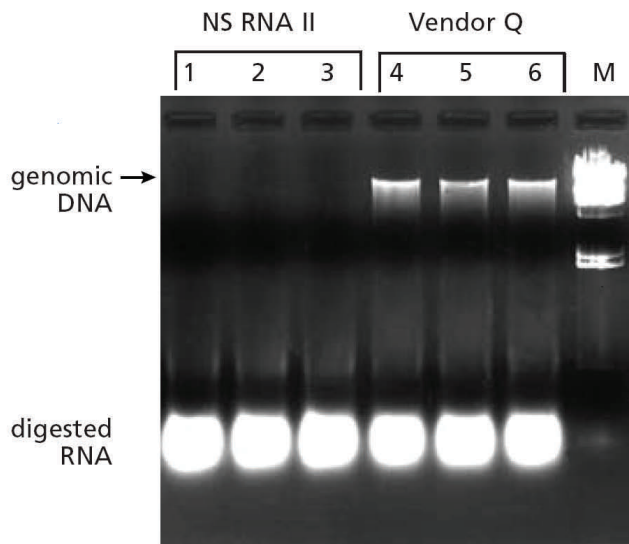
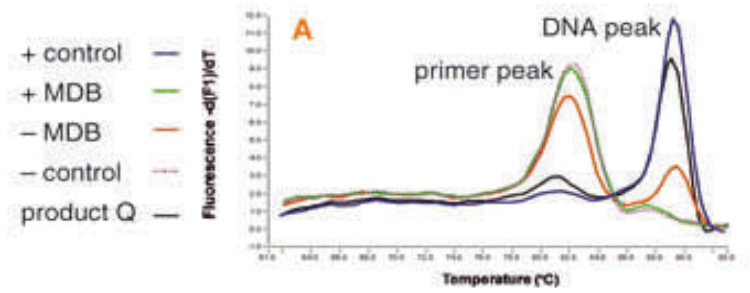


Fig.4 Genomic DNA 殘留量與 Q 牌的比較

Total RNA 是由 10^6 HeLa cells 分別使用 MN NucleoSpin[®] RNA II (Lane 1-3)及 Q 牌 RNA kit (Lane 4-6)進行萃取。取 10ul total RNA 以 RNase A 處理後以 1% TAE agarose gel 分析觀察 genomic DNA 殘留情況。即使 Q 牌使用 Dnase I 處理 total RNA sample，genomic DNA 殘留的情況依然比 MN NucleoSpin[®] RNA II 嚴重。



1, 2: + MDB
3, 4: - MDB
5, 6: product Q
7, 8: + control
9: - control
10: marker

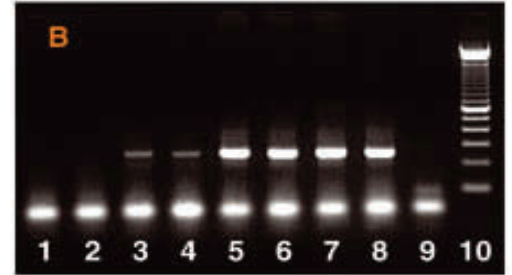


Fig.5 rDNase 搭配 MDB (membrane desalting buffer)能完全移除 genomic DNA

以 NucleoSpin RNA II 萃取 total RNA 並比較使用 MDB (+MDB)與不使用 MDB (-MDB)對於 rDNase 的影響。DNA contaminant assay 是以 qPCR 進行偵測，並將 PCR product 以 agarose gel 分離。當 sample 有 DNA 殘留的情況下能觀察到 PCR 產物。rDNase 搭配 MDB 能完全避免 gDNA contamination。

Product Information

Technology	Silica – membrane technology
Format	Mini spin columns
Sample material	< 5×10^6 cultured cells, < 10^9 bacterial cells < 10^8 yeast cells, < 30 mg tissue
Fragment size	> 200 b
Typical yield	14 μ g from 10^6 HeLa cells 70 μ g from 10^9 bacterial cells
A260/280	1.9-2.1
Typical RIN (RNA integrity number)	> 9
Elution volume	40-100 μ l
Preparation time	30 min/6 preps
Binding capacity	200 μ g

Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
NucleoSpin [®] RNA II	10 reactions	740955.10
	50 reactions	740955.50
	250 reactions	740955.250

- 最多可由 200mg 組織中萃取 total RNA。
- 最多可萃取 600ug RNA。
- 操作過程中不使用 phenol/chloroform 等有機溶劑。
- 可適用於細胞、組織、細菌(G+/G - bacteria)及酵母菌。

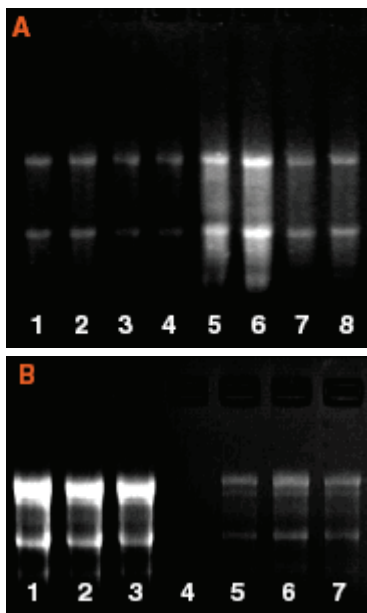


Fig.1 NucleoSpin RNA L 能由動物組織萃取高品質的 total RNA
Pig liver & kidney 分別以 NucleoSpin RNA L 及 Q 牌同類型產品萃取 total RNA。

A: RNA isolated from 100mg (1~4) and 200mg (5~8) pig kidney.

Lane 1,2,5,6: NucleoSpin RNA L

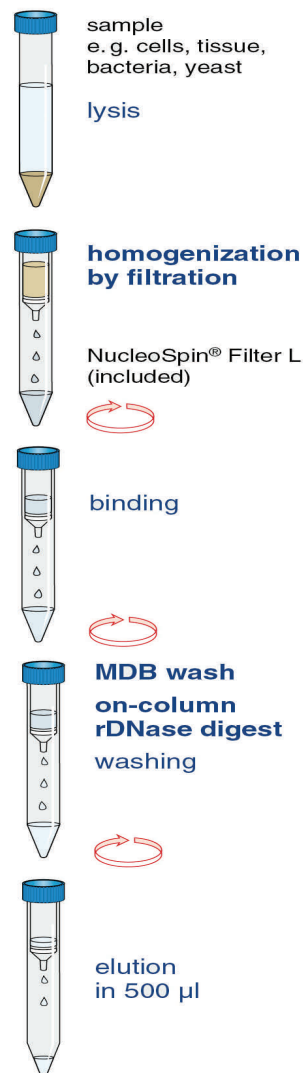
Lane 3,4,7,8: Competitor Q

B: RNA isolated from 200mg pig liver sample.

Lane 1,2,3: NucleoSpin RNA L

Lane 4: Blank

Lane 5,6,7: Competitor Q



Product Information

Technology	Silica – membrane technology
Format	Midi spin columns
Sample material	< 5 x 10 ⁷ cultured cells, < 200 mg tissue < 10 ¹⁰ bacterial cells, up to 3 x 10 ⁸ yeast cells
Fragment size	200b ~ 20Kb
Typical yield	180 µg from 10 ⁷ HeLa cells 620 µg from 4 x 10 ⁷ HeLa cells
A260/280	1.9-2.1
Typical RIN (RNA integrity number)	> 9
Elution volume	500 µl
Preparation time	80 min/4 preps
Binding capacity	700 µg

Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
NucleoSpin [®] RNA L	20 reactions	740962.20

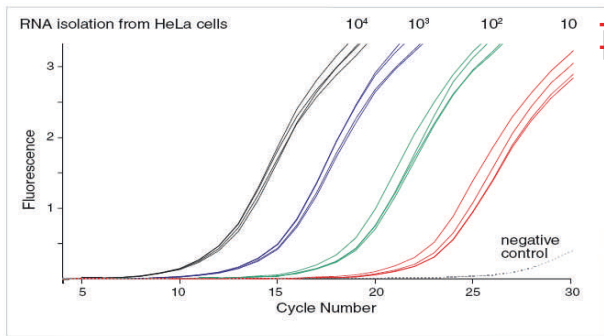


NucleoSpin[®] RNA XS

- ▶ 可由 <5mg 檢體或是單一細胞就能萃取 RNA
- ▶ 只需要 5ul 就可以 elute RNA，使 RNA 提高至能直接應用於後續實驗的濃度。
- ▶ 萃取的 RNA 可直接應用於 RT-PCR 及其他 RNA 相關實驗。

Table.1 同樣的 sample 中 NucleoSpin RNA XS 能比 Q 牌獲得更多的 total RNA。

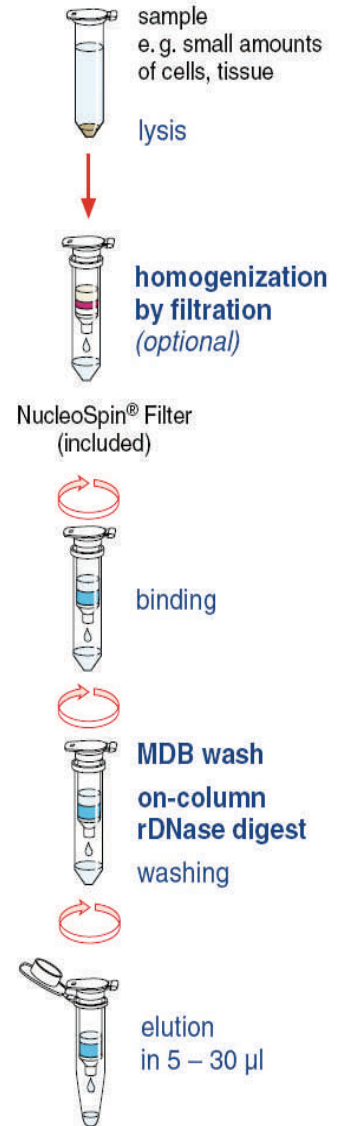
Tissue or Cell Source	Amount of Starting Material	NucleoSpin RNA XS Sample No. 1 (ng/μl)	NucleoSpin RNA XS Sample No. 2 (ng/μl)	Competitor Q Sample No. 1 (ng/μl)	Competitor Q Sample No. 2 (ng/μl)
Mouse Kidney	0.5 mg	157	108	96	63
Mouse Kidney	0.1 mg	27	25	17	18
HeLa Cells	1,000 cells	1.3	1.7	0.08	0.06



再少的樣品也不怕抽不到 RNA !

Total RNA Extraction

如左圖，可由單一細胞或 0.1mg 組織萃取 total RNA。



Product Information

Technology	Silica – membrane technology
Format	XS spin columns
Sample material	Tissue <5mg 1-10 ⁵ cultured cells
Fragment size	>200b
Typical yield	10 ² HeLa cells: 0.1~1.5ng ; 10 ³ HeLa cells: 10~15ng 10 ⁴ HeLa cells: 100~150ng ; 10 ⁵ HeLa cells: 1000~1500ng
A260/280	1.9-2.1
Typical RIN (RNA integrity number)	> 9 (Depending on sample quality)
Elution volume	5-20 μl
Preparation time	40 min/12 preps
Binding capacity	90 μg

Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
NucleoSpin [®] RNA XS	10 reactions	740902.10
	50 reactions	740902.50
	250 reactions	740902.250

ArrayPure™ Nano-scale RNA purification kit 是針對少量真核細胞(1-10⁴ cells)所設計的 RNA purification kit。操作過程完全不使用有機溶劑，也不會有 RNA 殘留在 column 中的問題。適用少量細胞、少量組織、LCM 等 sample 的 total RNA 萃取，並應用於 real-time RT-PCR 及 2-round aRNA synthesis for microarray analysis 等相關實驗。

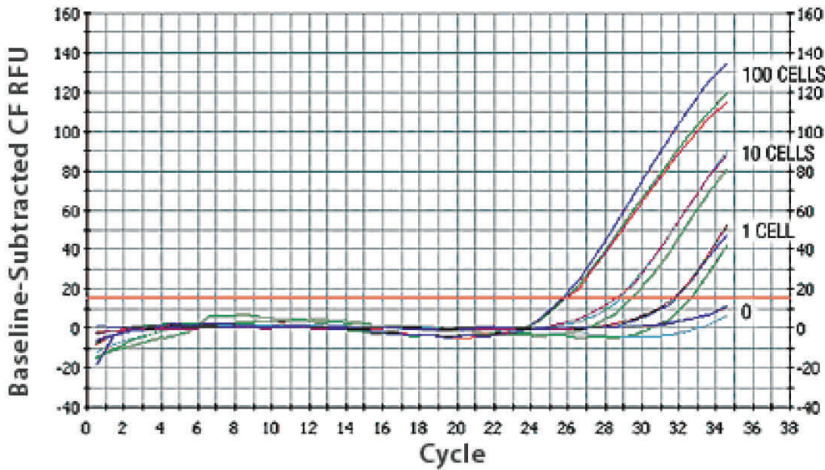


Fig.1 使用 ArrayPure™ Nano-scale RNA purification kit 分別由 10²、10、1 個 HeLa cells 萃取 total RNA(3 重複) 所得的 RNA 以 MMLV 合成 cDNA 並使用 real-time PCR 偵測結果。

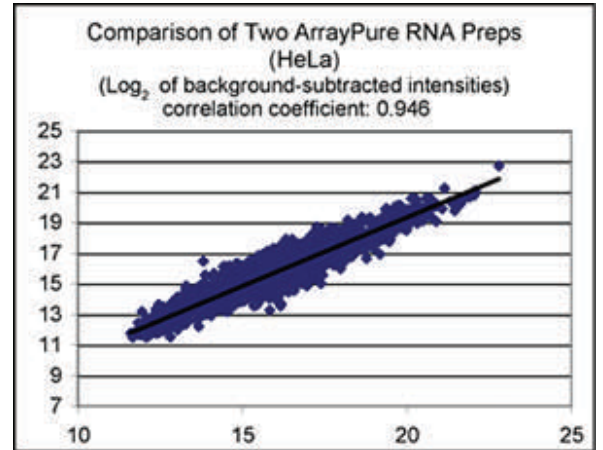


Fig.2 使用 ArrayPure™ Nano-scale RNA purification kit 分別萃取兩個不同 flask 的 HeLa cell RNA，並分別 label Cy3、Cy5 進行 microarray analysis，其相關係數為 0.946。

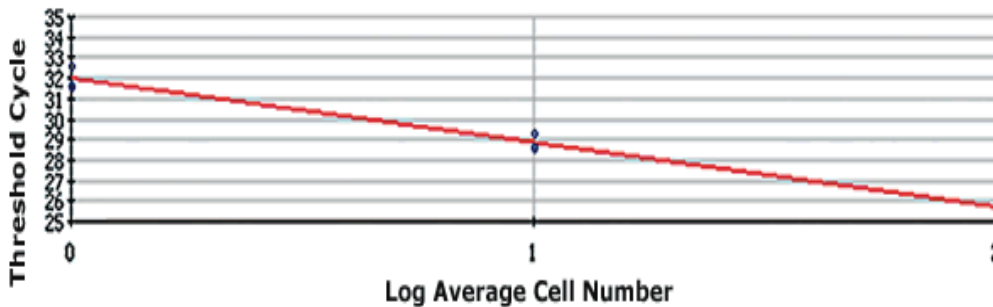


Fig.3 根據 Fig.1 data 所繪製的 standard curve。Slope=-3.14 · R2=0.992。



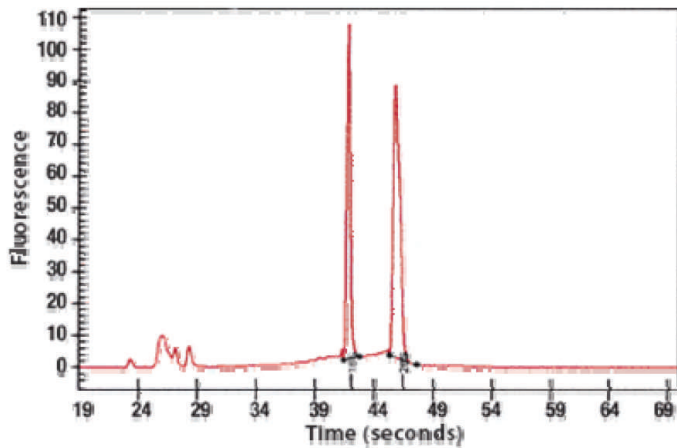
Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
ArrayPure™ Nano-scale RNA Purification Kit	10 RNA purifications	MPR09010
	100 RNA purifications	MPR09100

產品內容: Nano-scale Lysis Solution, 2X Nano-scale Lysis Solution, MPC Protein Precipitation Reagent, Proteinase K, RNase-Free DNase I, RiboGuard™ RNase Inhibitor, 1X DNase Buffer, TE Buffer.

- ▶ 不使用 phenol 等有毒有機溶劑。
- ▶ 不需使用玻璃珠磨碎細胞，提高 RNA 品質。
- ▶ 1ml *S.cerevisiae* 約能萃取 25~50ug RNA。
- ▶ 可應用於 cDNA synthesis、microarray gene expression assay 等相關實驗。

MasterPure™ Yeast RNA purification kit 適用於各種不同的酵母菌及真菌菌絲體，操作過程不使用有機溶劑、也不使用玻璃珠磨碎細胞，增加 RNA 純化效率。

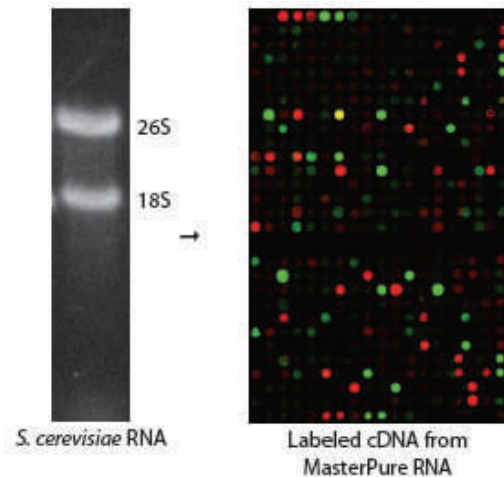


Quality of obtained using the MasterPure™ Yeast RNA Purification Kit.

使用 MasterPure™ Yeast RNA Purification Kit 萃取 *S.cerevisiae* 並保存於 -20°C 2 個月，並使用 Agilent Technologies 2100 Bioanalyzer 進行分析。由本圖可得知 MasterPure Yeast RNA Kit 不僅能得到高品質的 RNA，更能增加其 RNA 保存性。

Microarray analysis of yeast RNA purified with the MasterPure™ Yeast RNA Purification Kit.

右圖是 *S.cerevisiae* 經 MasterPure™ Yeast RNA Purification Kit 萃取 RNA 並經過 reverse transcription、labeling 並 hybridized to *S. cerevisiae* DNA microarray。



Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
MasterPure™ Yeast RNA Purification Kit	10 RNA purifications	MPY83010
	100 RNA purifications	MPY83100

產品內容: Extraction Reagent for RNA, MPC Protein Precipitation Reagent, TE Buffer (in 100-reaction kit only), Proteinase K, RNase-Free DNase I, RiboGuard™ RNase Inhibitor, 10X DNase Buffer, 2X T & C Lysis Solution.

可同時萃取 Small RNA、Large RNA 及蛋白質

- ▶ 可依據實驗需求萃取不同分子量的 RNA
 - 可單獨萃取 Small RNA (18~200 bases)
 - 或是分別萃取 Small RNA (18~200 bases) 及 Large RNA (>200bases)
 - 或是萃取 total RNA (同時有 Small RNA 及 Large RNA)
 - ▶ 分離的蛋白質可應用於 SDS-PAGE 及 Western Blot。
 - ▶ 沒有 Phenol/Chloroform 的情況下，依然能得到高品質 RNA
 - 以 chaotropic salt 裂解細胞，減少危害性
 - 使用 spin-column，簡單易用
 - ▶ 簡單易用操作步驟
- NucleoSpin Filter: 過濾均質後的細胞碎片
 NucleoSpin Protein Removal Columns: 高純度的 RNA
 提供 rDNase: 分解 column 中的 genomic DNA

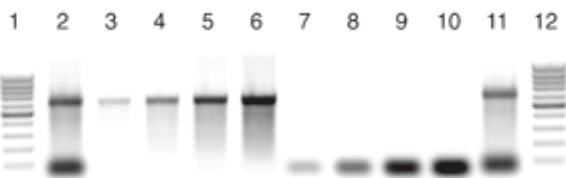


Fig.1 2.5ug, 5ug, 10ug, 15ug 雙股 RNA 分別使用 DICER enzyme 分解為 small RNA，反應結束後使用 NucleoSpin miRNA 將 large dsRNA 與 small siRNA 分離純化，並以 1% TAE agarose gel 分析。
 1,12:100bp DNA marker 2,11:unpurified DICER reaction mix
 3-6: 25ul purified large dsRNA 7-10: 25ul purified small RNA

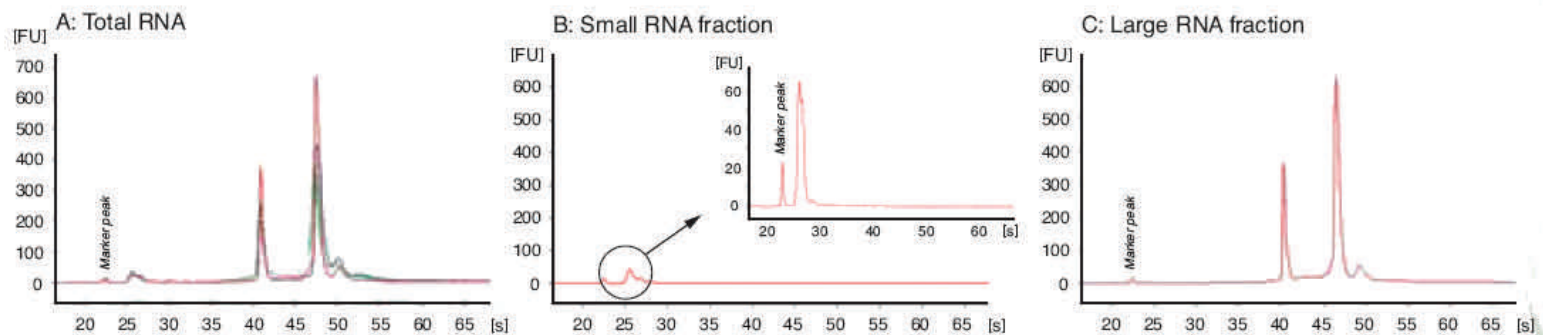


Fig.2 使用 Agilent Bioanalyzer 分析 MN NucleoSpin miRNA 分別萃取 total RNA、Small RNA 及 Large RNA 的分佈情況。

由 10^7 HeLa cell 以 NucleoSpin miRNA 萃取 RNA，並分別將 total RNA (A)、small RNA (B) 及 large RNA (C) 進行分析，NucleoSpin miRNA 不單可以得到 total RNA，更可以將 small RNA 與 large RNA 完全分離

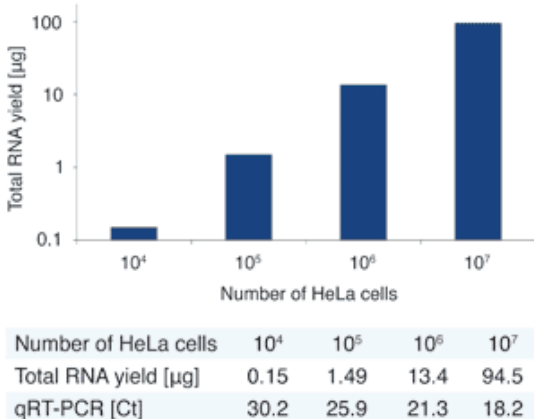


Fig.3 分別使用 NucleoSpin miRNA 萃取 10^4 、 10^5 、 10^6 、 10^7 HeLa cell total RNA，並使用 MiR-16 進行 qPCR，萃取到的 total RNA 隨著細胞數等比例增加，且 qPCR 的 Ct 值也隨著 RNA 量而等比例減少。

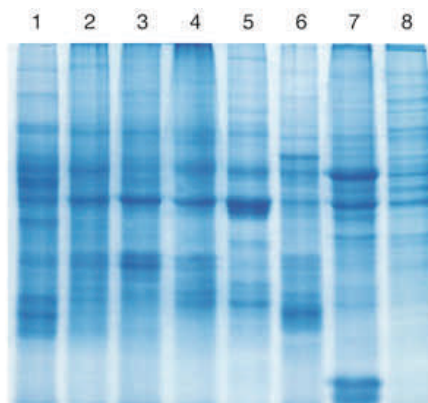


Fig.4 由不同組織分別以 NucleoSpin miRNA 分離的蛋白質，並溶於 Laemmli-like PSB，取 40ug 以 12% SDS-PAGE 分析。
 1. mouse liver
 2. mouse kidney
 3. mouse spleen
 4. mouse lung
 5. mouse heart
 6. porcine liver
 7. human brain
 8. HeLa cell

你正在尋找 miRNA 嗎??

miRNA Extraction

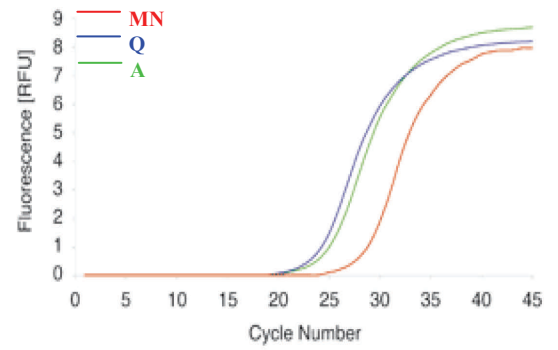
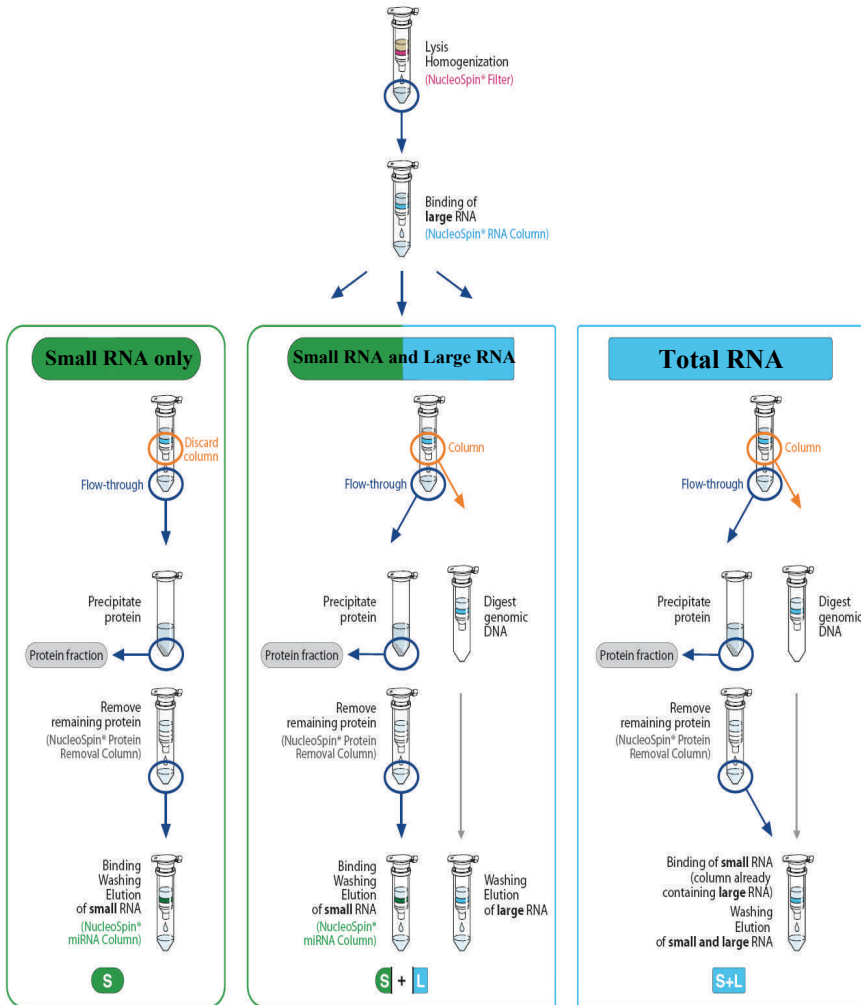
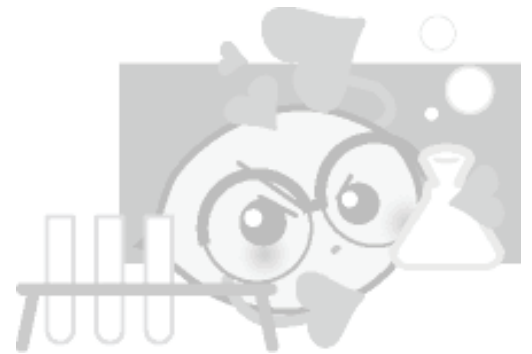


Fig.5 NucleoSpin miRNA 的 gDNA 殘留較 Q 牌與 A 牌低。

10⁷ HeLa cells 分別以 NucleoSpin miRNA 及同類型 Q 牌與 A 牌產品進行 miRNA extraction，並以 qPCR 偵測 200bp 片段 ATPase 6 gene。NucleoSpin miRNA 的 gDNA Ct 值均落後 A 牌 (ΔCt=3.5) 與 Q 牌 (ΔCt=4.3) 表示 A 牌與 Q 牌的 gDNA 殘留比 NucleoSpin miRNA 多 10 倍。



Product Information

Technology	Silica – membrane technology
Format	Mini spin columns
Sample material	< 10 ⁷ culture cells, < 30mg human/animal tissue < 50mg plant tissue, < 150ul reaction mixture
Fragment size for Small RNA	18 - 200 bases
Fragment size for Large RNA	>200 bases
Typical yield	10ug small RNA, 95ug large RNA from 10 ⁷ HeLa cells
Binding capacity	200µg
Elution volume	30 - 100 µl
Preparation time	< 45 min (6 preps human/animal tissue, small and large RNA) < 35 min (6 preps human/animal tissue, small RNA)

Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
NucleoSpin® miRNA	10 reactions	740971.10
	50 reactions	740971.50
	250 reactions	740971.250

- 可萃取植物細胞、植物組織、真菌菌絲體的 Total RNA
- 內含 2 種 lysis buffer (RA1、RAP)可供選擇，對不同的樣品達到最佳效果。
- 每個流程最多能得到 70ug RNA
- 可應用於 Real-Time RT-PCR、primer extension、array technology、RNase protection assay 等相關實驗。

植物樣品萃取 RNA 的最佳利器

Plant RNA Extraction

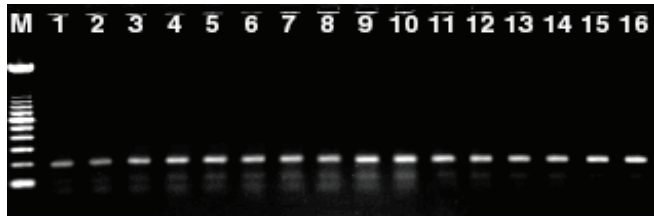


Fig.1 NucleoSpin RNA Plant 能移除所有 RT-PCR inhibitor

植物組織裡的二次代謝物，ex: 多醣類，是抑制 RT-PCR 產物的重要因素。以上 16 個 RT-PCR 結果是分別由 8 種不同植物，分別取 50mg 以 NucleoSpin RNA Plant 萃取 RNA，各組最後以 60ul elute，並取 3ul total RNA 進行 RT-PCR，最後取 15ul PCR product 以 1.2% agarose 分析，PCR product 長度為 200bp。

M: marker 1,2: Tobacco 3,4: Tomato 5,6: Red pepper 7,8: Zucchini 9,10: eggplant 11,12: Broccoli 13,14: Radish 15,16: Maize

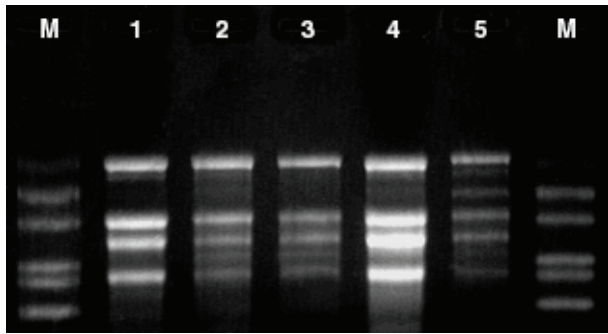


Fig.2 NucleoSpin RNA Plant 對於各種植物 sample 皆能萃取高品質的 total RNA。

上圖是取不同植物 50mg 葉片，以 NucleoSpin RNA Plant 萃取 total RNA，再以 1% Formaldehyde gel 分析的結果。

Lane 1: maize,

Lane 2: thyme,

Lane 3: *Palma christi*

Lane 4: tobacco,

Lane 5: rye,

M: Marker.

Lanes	Average yield
1 – 3: wheat MN	24 µg
4 – 6: wheat competitor Q	18 µg
7 – 9: corn MN	36 µg
10 – 12: corn competitor Q	32 µg

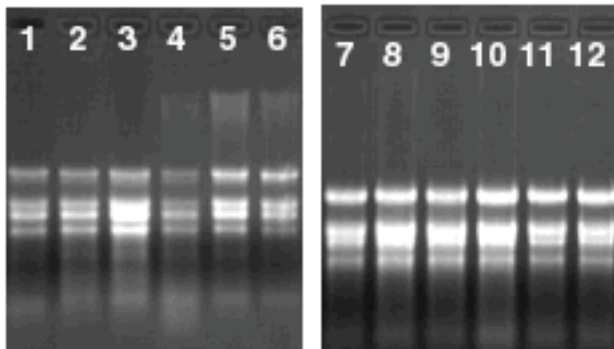


Fig.3 NucleoSpin RNA Plant 與 Q 牌類型產品比較

取 100mg 的小麥及玉米葉片分別以 NucleoSpin RNA Plant 及 Q 牌同類型產品做比較，各組最終 total RNA 為 100ul，各取 10ul 以 1.2% formaldehyde agarose gel 分析，A260/280 介於 1.8~2.1。

上圖表可知，NucleoSpin RNA Plant 得到的 RNA 品質較 Q 牌好，且平均萃取量也較多。

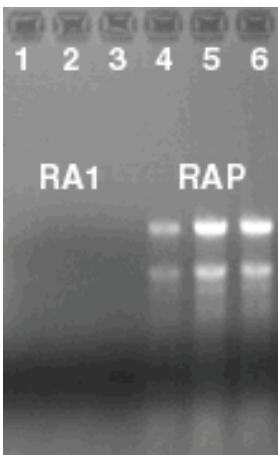


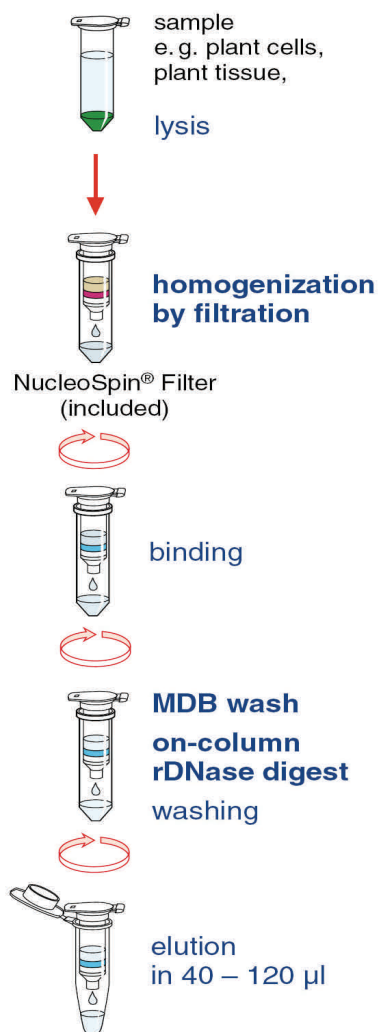
Fig.4 NucleoSpin RNA Plant 提供 2 種不同的 lysis buffer

對於不同的植物通常需要使用不同的 lysis buffer 才能萃取最多的 RNA，MN NucleoSpin RNA Plant 提供了 RA1 及 RAP 兩種 lysis buffer 供客戶選擇。

左圖是使用 NucleoSpin RNA Plant 由 50mg 罌粟種子分別以 RA1 (Lane 1~3)及 RAP (Lane 4~6)進行 lysis，並比對最後的 total RNA 結果，各組取 20ul total RNA 以 1.2% Formaldehyde agarose gel 分析，由左圖及下表可知，RAP lysis 罌粟種子的效果比 RA1 要好，得到的 total RNA 也較多。

Lanes:	Average Yield
1-3: poppy seed lysed with buffer RA1	0.84ug
4-6: poppy seed lysed with buffer RAP	7ug

NucleoSpin RNA Plant 操作流程



species	organ	yield [µg]
<i>Allium cepa</i>	germ bud	13
<i>Allium sativum</i>	leaf	13
<i>Arabidopsis thaliana</i>	leaf	15
<i>Beta vulgaris</i>	leaf	17
<i>Brassica napus</i>	leaf	9
	blossom	9
	stalk	7
<i>Capsicum annuum</i>	leaf	8
<i>Cucumis melo</i>	leaf	15
<i>Gladiolus spec.</i>	leaf	7
<i>Hordeum vulgare</i>	leaf	3
<i>Lactuca sativa</i>	leaf	4
<i>Lycopersicon esculentum</i>	leaf	10
<i>Mucor rouxii</i> (fungus)	mycelium	6
<i>Nicotiana tabacum</i>	leaf	24
	root tip	12
	stalk	18
	blossom	33
<i>Secale cereale</i>	leaf	12
<i>Taraxacum officinale</i>	leaf	10
<i>Thymus herba-barona</i>	leaf	15
<i>Triticum aestivum</i>	leaf	4
<i>Viola tricolor</i>	leaf	9
<i>Zea mays</i>	leaf	18

Table.1 由 50mg 不同植物樣本萃取 total RNA 平均萃取量

Product Information

Technology	Silica – membrane technology
Format	Mini spin columns
Sample material	1-100mg tissue
Fragment size	200 b - 20kb
Typical yield	3-70ug from 100mg plant material
A260/280	1.9-2.1
Elution volume	60 µl
Preparation time	30 min/6 preps
Binding capacity	200 µg

Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
NucleoSpin® RNA Plant	10 reactions	740949.10
	50 reactions	740949.50
	250 reactions	740949.250

- ▶ 能完全移除植物組織內干擾核酸反應的抑制物質。
- ▶ 只要 60min 就能由植物組織萃取 total RNA。
- ▶ 不需使用 phenol、chloroform 等有毒有機溶劑。
- ▶ 不需使用 column，即使是 <200bp 的 small RNA 都會被萃取，沒有 binding size 及核酸殘留的問題。
- ▶ 可應用於 RT-PCR, Northern blotting, miRNA assay, microarray 等相關實驗。

MasterPure™ Plant RNA purification kit 內含 Plant Tissue and Cell Lysis Solution，能移除植物組織內常見、且會影響後續核酸相關實驗的多酚類、多醣類代謝物。純化的過程中所有的核酸都會沈澱，即使是 <200bp 的 small RNA 也能被萃取。

Fig.1 不同的植物組織分別使用 MasterPure™ Plant RNA purification kit 萃取 total RNA，並各取 500ng 以 1% formaldehyde gel 分離的結果。
Lanes M: RNA ladder;
Lane 1: maize seedling RNA;
Lane 2: grape leaf RNA;
Lane 3: alfalfa sprout RNA;
Lane 4: strawberry leaf RNA;
Lane 5, raspberry leaf RNA;
Lane 6: pine needle RNA;
Lane 7: maize root RNA。

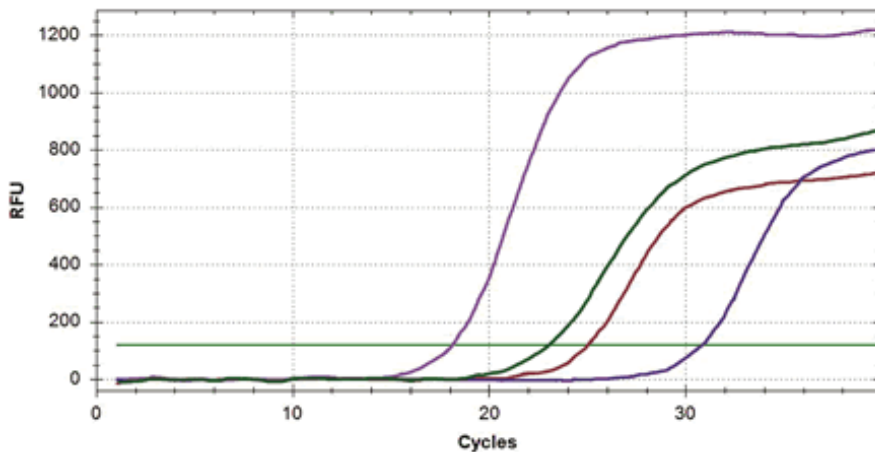
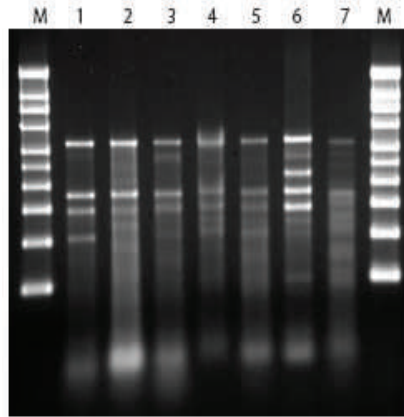


Fig.2 Maize leaf 使用 MasterPure™ Plant RNA purification kit 萃取 total RNA 並以 MMLV 合成 cDNA，分別以不同的 primer set 進行 real-time PCR。偵測的 primer set 包括 MatK (紫色)、GAPDH (深綠色)、actin 1 (紅色) 及 TubG1 (藍色)。

Source of RNA	Yield (µg)
Alfalfa sprouts	36.1
Banana leaves	6.2
Grape leaves	9 - 25.9
Maize leaves	17.7 - 55.7
Maize seedlings	28 - 37 (leaf) 35 (stem) 19 (root)
Maize roots (mature)	18.6
Pine needles	5.2
Raspberry leaves	15.7
Strawberry leaves	12.4
Strawberry roots	46

Table.1 各種植物組織使用 MasterPure™ Plant RNA purification kit 獲得的 total RNA 產量。

Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
MasterPure™ Plant RNA Purification Kit	50 RNA purifications	MPS04050

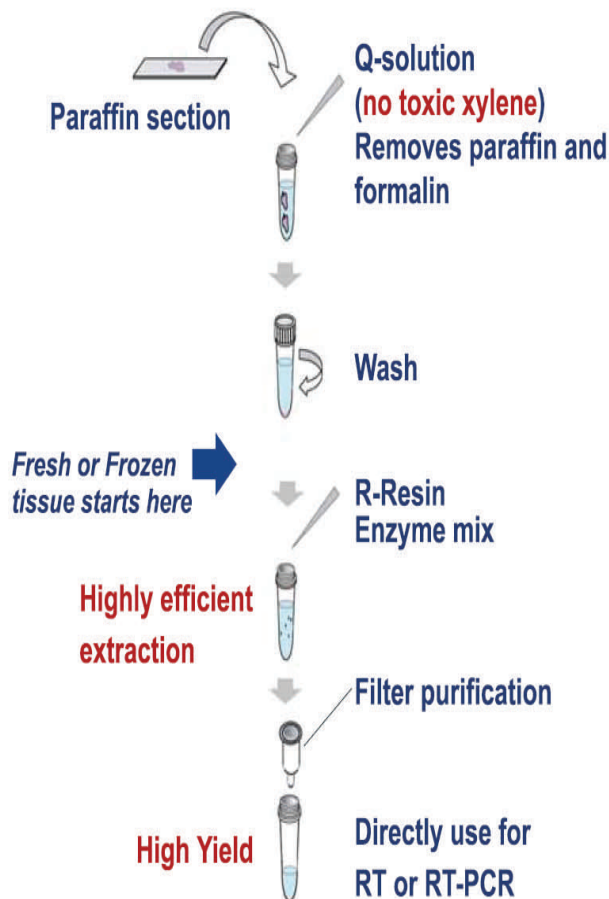
產品內容: Nano-scale Lysis Solution, 2X Nano-scale Lysis Solution, MPC Protein Precipitation Reagent, Proteinase K, RNase-Free DNase I, RiboGuard™ RNase Inhibitor, 1X DNase Buffer, TE Buffer.

- 不需操作毒性有機溶劑 xylene
- 不使用 column 或磁珠，僅使用 resin 移除 RNA 以外的物質，無 RNA 殘留的問題
- 全程操作時間少於 2hr。
- 可適用於 FFPE sample、fresh or frozen tissue、cultured cells。
- 可應用於 RT-PCR、Real-Time RT-PCR。

-RNA Extraction from paraffin sample

WaxFree™ RNA 為針對 FFPE sample 所設計 RNA extraction kit。一般市面上較常見以 silica column 或是磁珠萃取 RNA，但是這兩種方式都有可能因 RNA binding 效果或是 elute 效果不好造成最終 RNA 產量過低。WaxFree RNA 以 Q-solution 溶解 paraffin，再以 enzyme mix 及 R-resin 分解蛋白質、DNA 並吸附，最後離心得能直接進行 RT-PCR 的 total RNA。

WaxFree RNA 簡易操作步驟



Ordering Information

產品名稱

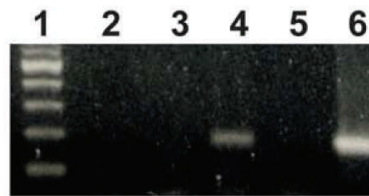
包裝

產品編號

WaxFree™ RNA

50 reactions

WR-50

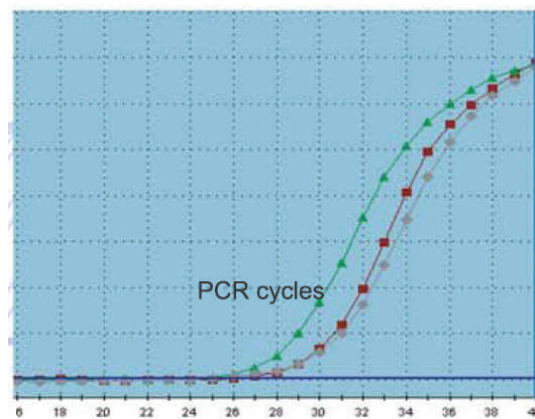


WaxFree RNA extraction from lung tissue FFPE section

使用 WaxFree RNA 萃取肺部 FFPE sample (size: 1x1 cm · 5um thickness) 得到的 total RNA 取 20ul 進行 50ul 的 RT 反應，再由 RT 反應產物取 15ul 進行 50ul PCR 反應。使用的 primer 為 EGFR primer set，PCR 產物為 195bp。

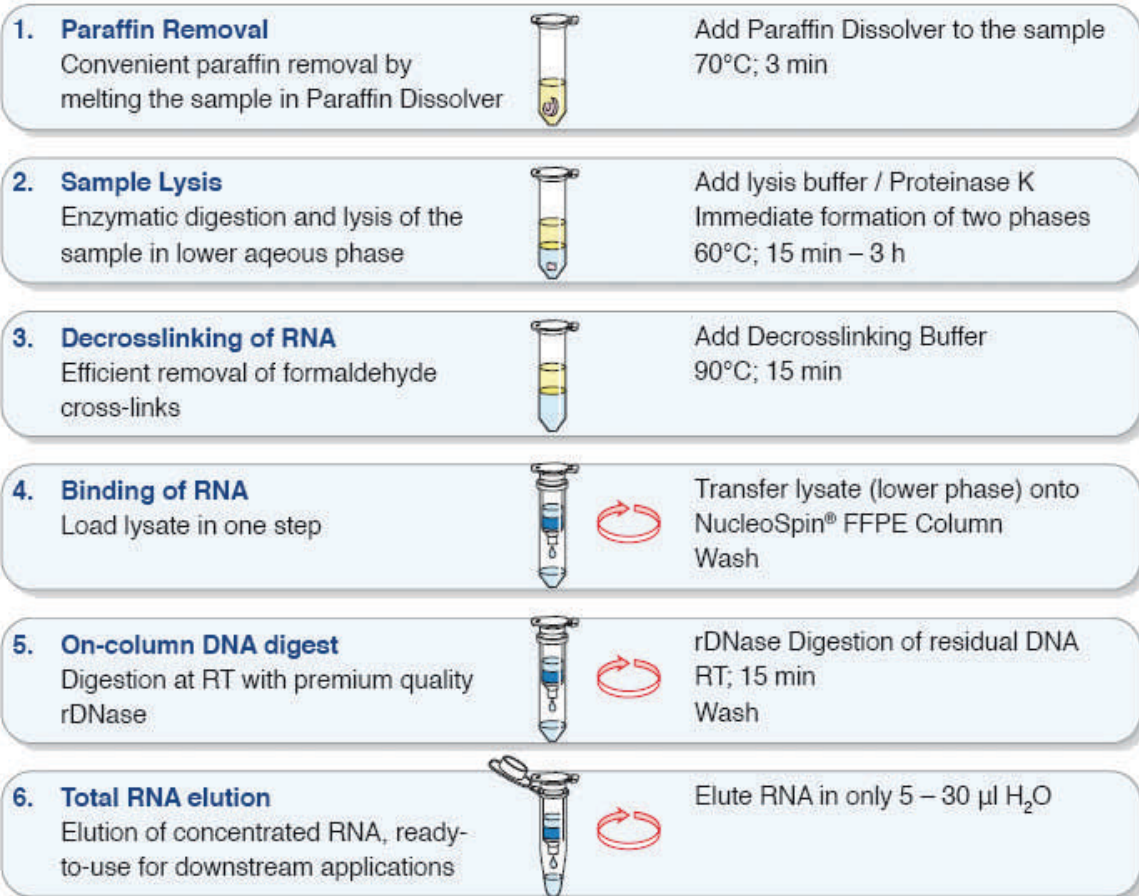
- Lane 1: 100bp ladder;
- Lane 2: NTC
- Lane 3: gDNA control;
- Lane 4: WaxFree RNA extract
- Lane 5: WaxFree RNA extract without tissue
- Lane 6: Commercial total RNA (positive control)

取上圖的 1ul RT product 進行 30ul qPCR reaction



- 內含 Paraffin Dissolver 移除 paraffin，不需操作毒性有機溶劑 xylene，而且只需 3 分鐘就能夠完全移除 paraffin。
- 內含 Decrosslinking buffer、rDNase，有效去除殘留的 DNA。
- XS mini column 設計，只要 5ul 就可以萃取 RNA，有效提高 RNA 濃度
- 操作步驟簡單，操作時間只要 70 分鐘。
- 可應用於 RT-PCR、Real-Time RT-PCR
- 另有可由同一 FFPE 樣品同時萃取 RNA 及 DNA 的 NucleoSpin FFPE RNA/DNA 供客戶選用。

簡單的操作流程



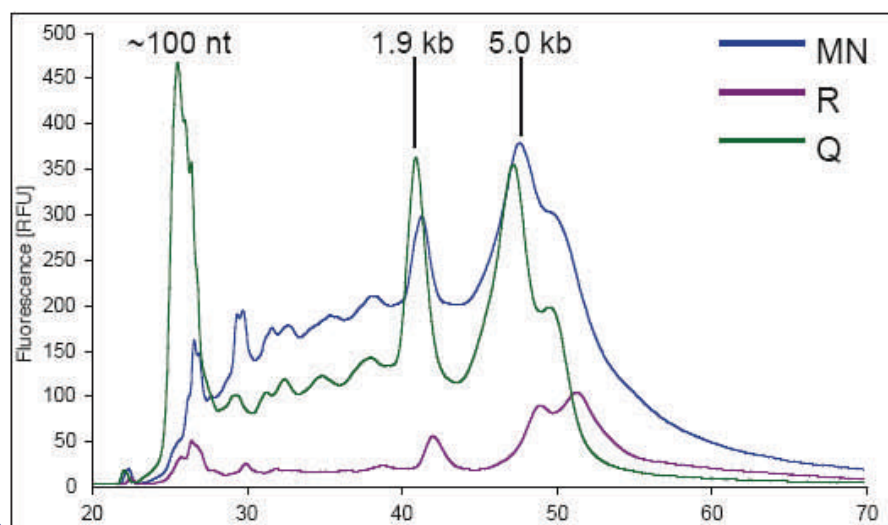
	MN	Q	R
Working steps:	36	43	54
Centrifugation steps:	9	9	15
Preparation time:	70 min	75 min	251
Ct-values**:	21.5	26.0	24.0

Table.1 相較於 Q 牌與 R 牌 NucleoSpin FFPE RNA 的操作步驟最少、操作時間最短，依然有最佳的 RNA quality！！！



高品質的 FFPE RNA 純化套組

FFPE RNA Extraction



使用 7.5mm 大鼠肝臟 FFPE 組織切片進行 RNA 萃取，分別以 NucleoSpin FFPE RNA Q 牌及 R 牌同類型 kit 進行比較；MN NucleoSpin FFPE RNA 能得到較多的大片段 RNA 及較少的小片段 RNA，其 RNA 完整性較 Q 牌及 R 牌更佳。



Product Information

Technology	Silica – membrane technology
Format	Mini spin columns - XS design
Sample material	Up to 7 sections (10um)of 250mm ² or 15mg paraffin
Typical yield	Depend on amount and quality of sample
A260/280	1.9 - 2.1
Typical RIN	2 - 6 (Strongly depend on sample quality)
Elution volume	5 - 30 µl
Preparation time	~70 min/6 preps
Binding capacity	60 µg

Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
NucleoSpin® FFPE RNA	10 reactions	740969.10
	50 reactions	740969.50
	250 reactions	740969.250
NucleoSpin® FFPE RNA/DNA	10 reactions	740978.10
	50 reactions	740978.50
	250 reactions	740978.250
Paraffin Dissolver	25ml	740968.25

- ▶ 只要 32 分鐘就能由 FFPE sample 萃取 RNA，適合快速篩檢
- ▶ 不需使用 xylene、phenol 等有毒有機溶劑。
- ▶ 可依實驗需求選擇是否使用 DNase I 處理。
- ▶ 可應用於 RT-PCR 等相關實驗。

QuickExtract™ FFPE RNA Extraction kit 是市面上最簡易的 RNA extraction kit from FFPE sample。一般市面上萃取 FFPE sample 需使用 xylene 去除 paraffin，不僅操作步驟繁瑣，也容易造成 RNA degradation。QuickExtract™ FFPE RNA Extraction kit 僅使用加熱處理溶解 paraffin、裂解細胞、降低福馬林所造成的 cross-linking，且反應時間低於 35 分鐘。

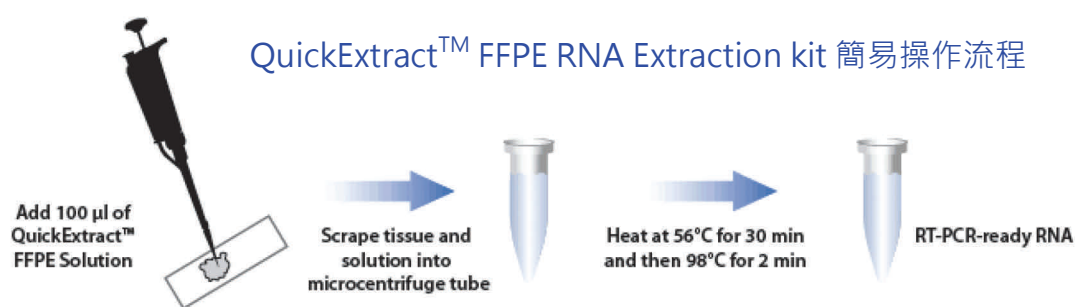
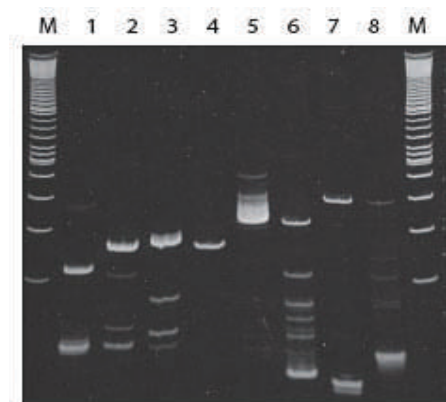


Fig.1 如下圖，以 QuickExtract™ FFPE RNA Extraction kit 萃取 FFPE sample from skeletal muscle RNA 並使用 MMLV 合成 cDNA，並使用不同片段的 PCR primer set 進行不同基因的 PCR 測試。



Lane M, 100-bp DNA ladder;
Lane 1, a 116-bp region of RYR1;
Lane 2, a 162-bp region of ACTA;
Lane 3, a 166-bp region of RSP18;
Lane 4, a 166-bp region of ENO3;
Lane 5, a 226-bp region of GAPDH;
Lane 6, a 232-bp region of OAZ1;
Lane 7, a 307-bp region of ACTB;
Lane 8, a 308-bp region of TNF.

廠牌	操作時間	Tissue Size	Toxic Chemicals	Special requirement	Tube change
Epicentre FFPE DNA Extraction Kit	32 min ★	1 section ★	No ★	No ★	No ★
Q牌 FFPE DNA Extraction Kit	5 hr to Overnight	3 section	Xylene	Column and EtOH ppt.	Yes
S牌 FFPE DNA Extraction Kit	Overnight	5 section	No	Filter Column and EtOH ppt.	Yes
P牌 FFPE DNA Extraction Kit	Overnight	1 mg tissue	No	Resin and DNA IQ System	Yes
G牌 FFPE DNA Extraction Kit	7 hr to overnight	3 section	xylene	EtOH ppt.	yes

Tabel.1 QuickExtract FFPE RNA 和其他廠牌的比較

Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
QuickExtract™ FFPE RNA Extraction kit	5ml (50 reactions)	QFR82805
	50ml (500 reactions)	QFR82050

產品內容：QuickExtract™ FFPE RNA Extraction Solution, DNase buffer 1, RNase-Free DNase I, Stop Solution.

- ▶ 只要 1 分鐘就能由細胞萃取出 total RNA。
- ▶ 不需使用 phenol、chloroform 等有毒有機溶劑。
- ▶ 可依實驗需求選擇是否使用 DNase I 處理。
- ▶ 適合快速篩檢。
- ▶ 適用於貼附型細胞、懸浮型細胞、口腔細胞、大腸桿菌及金黃色葡萄球菌。

QuickExtract™ RNA Extraction kit 是市面上最快速的 RNA 萃取試劑。10³~10⁵ cells 加入 100ul Quickextract RNA solution 並 vortex 1 分鐘，就可以直接進行 RT-PCR 及其他相關實驗。

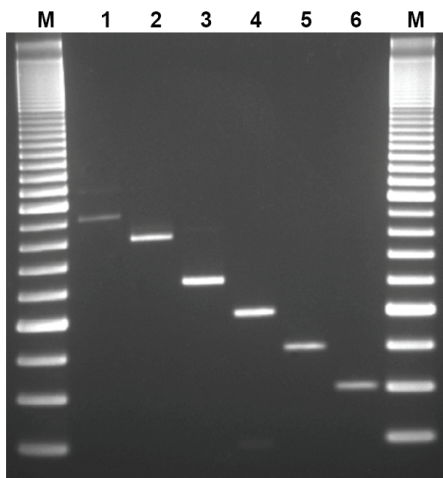


Fig.1 取 10⁵ HeLa cell 以 100ul Quickextract RNA solution vortex 1 分鐘萃取出 RNA。取 1ul RNA lysate 以 MMLV 合成 cDNA 並取 2ul cDNA template 以 p53 上 6 個不同的 primer sets 進行 PCR。

- Lanes M: 100-bp ladder
- Lane 1: 12,984-13,892
- Lane 2: 9,406-10,202
- Lane 3: 5,194-5,802
- Lane 4: 4,191-4,690
- Lane 5: 2,280-2,676
- Lane 6: 1,029-1,329

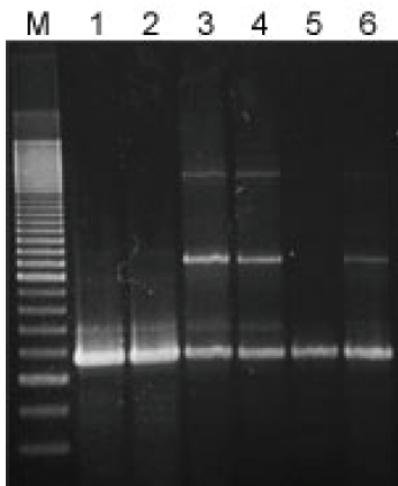
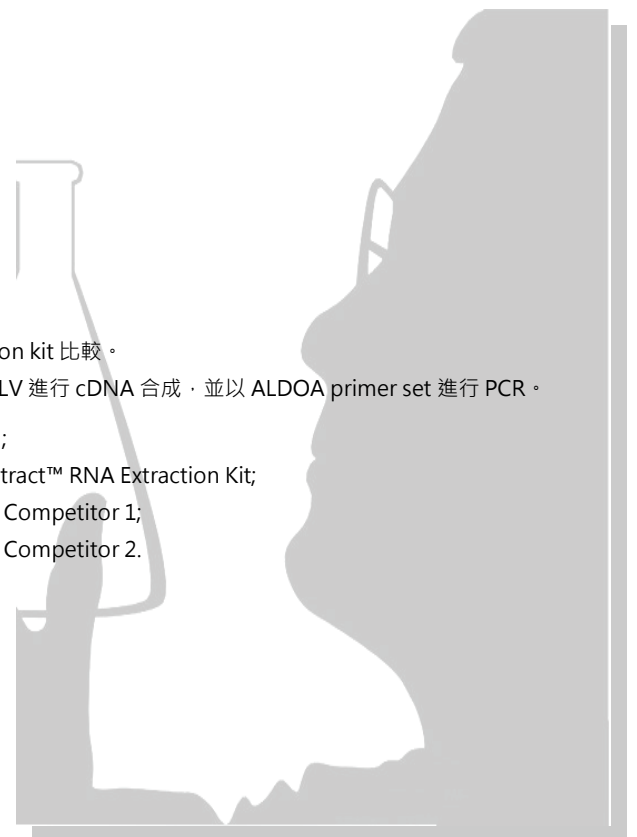


Fig.2 與其他廠牌 RNA extraction kit 比較。

各組的 RNA 皆使用 MMLV 進行 cDNA 合成，並以 ALDOA primer set 進行 PCR。

- Lane M, 100 bp ladder;
- Lanes 1 and 2, QuickExtract™ RNA Extraction Kit;
- Lanes 3 and 4, kit from Competitor 1;
- Lanes 5 and 6, kit from Competitor 2.



Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
QuickExtract™ RNA Extraction kit	5ml (50 reactions)	QER09015
	50ml (500 reactions)	QER090150

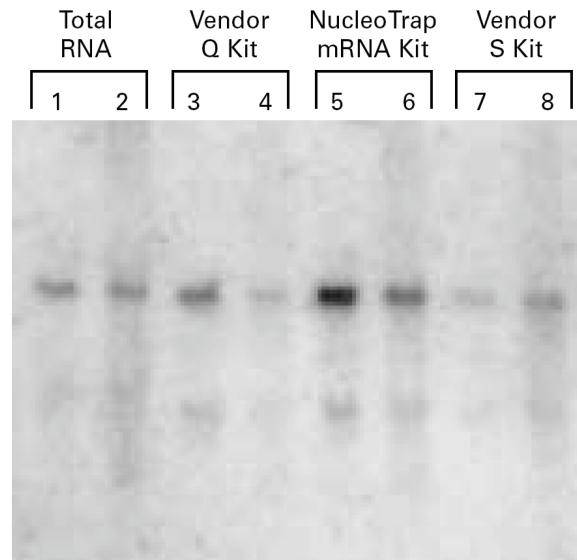
產品內容：QuickExtract™ RNA Extraction Solution, DNase buffer 1, RNase-Free DNase I, Stop Solution, RiboGuard™ RNase Inhibitor.

- 使用 oligo (dT) latex-beads 純化 mRNA。
- 可直接由 cultured cell 直接純化 mRNA，不需進行其他 RNA 純化。
- 只要 30 分鐘，就可以得到高品質、無 gDNA 的 mRNA。
- 適用於 mRNA isolation、RT-PCR、*in vitro* transcription 等相關實驗

mRNA isolation

MN NucleoTrap[®] mRNA Kit 能提供比 Q 牌及 S 牌更高品質的 mRNA。

500ug total RNA (from mouse kidney, Lane 1 & 2) 分別以 Q 牌的 mRNA kit (Lane 3 & 4)、NucleoTrap mRNA Kit (Lane 5 & 6)、及 S 牌的 mRNA Kit (Lane 7 & 8) 純化 mRNA。各組取 2.5ug RNA 以 1.5% Formaldehyde agarose gel 分離，並使用一段偵測 4.5-kb parkin gene transcript (Parkinson's Disease) 的 ³²P-Labeled DNA probe 進行 Northern Blot。由實驗結果顯示，使用 NucleoTrap mRNA kit 純化 mRNA 的效果較 Q 牌及 S 牌同類型產品更佳。



Product Information

	NucleoSpin [®] mRNA Mini	NucleoSpin [®] mRNA Midi
Technology	Affinity Chromatography	Affinity Chromatography
Format	Oligo (dT) latex-beads suspension	Oligo (dT) latex-beads suspension
Sample material	250 µg Total RNA	1000 µg Total RNA
Fragment Size	50b - 20Kb	50b - 20Kb
Typical yeild	10 µg mRNA	40 µg mRNA
A260/280	1.9 - 2.1	1.9 - 2.1
Elution Volume	10 - 20 µl	10 - 20µl
Preparation Time	30min / 6 preps	30min / 6 preps
Binding Capacity	5 µg poly(A) mRNA/mg beads	5 µg poly(A) mRNA/mg beads

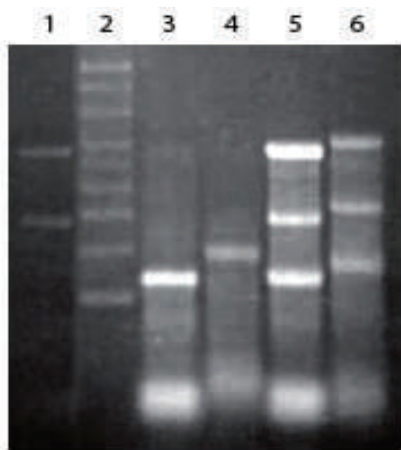
Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
NucleoSpin [®] mRNA Mini	12 reactions	740655
NucleoSpin [®] mRNA Mini	12 reactions	740656

- ▶ 萃取原核生物或真核生物的 mRNA 並移除 rRNA，可應用在 RNA amplification 及後續基因分析。
- ▶ 搭配 poly(A)-Tailing kit 可在原核生物 mRNA 接上 Poly(A)

mRNA-ONLY Prokaryotic/Eukaryotic isolation Kit 是使用 Terminator™ 5'-Phosphate-Dependent Exonuclease 處理 total RNA 中的 rRNA 及 tRNA。Terminator™ 5'-Phosphate-Dependent Exonuclease 具有 5' → 3' exonuclease 活性，能將 5' -monophosphat RNA 分解。由於 Total RNA 內 rRNA 具有 5' -monophosphat，因此以 Terminator™ 5'-Phosphate-Dependent Exonuclease 經過 1 小時的反應之後就能得到 mRNA。純化的 mRNA 可以進行 RT-PCR、gene expression analysis、Northern blot、及其他 RNA 相關實驗。

mRNA-ONLY Prokaryotic isolation Kit with poly(A)-Tailing 除了 Terminator™ 5'-Phosphate-Dependent Exonuclease 外，還包含 Poly(A) polymerase，能在 mRNA 的 3' 端接上 ATP 進行 A-tailing reaction，後續可應用於 cDNA 合成及 gene expression analysis。



E. coli total RNA(Lane1)與 718nt RNA 混合後，使用 mRNA-ONLY Prokaryotic/Eukaryotic isolation Kit 先以 Terminator™ 5'-Phosphate-Dependent Exonuclease 處理(Lane3)再使用 poly(A)-tailing 處理 mRNA (Lane4)。Lane5 為處理的 total RNA and mRNA 混合物，而 Lane6 為 RNA mix 使用 poly(A)-tailing 後的位移情況。Lane3 與 Lane5 的結果得知 Terminator™ 5'-Phosphate-Dependent Exonuclease 確實能移去 total RNA 中的 rRNA。

Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
mRNA-ONLY™ Prokaryotic mRNA Isolation Kit with poly(A)-Tailing	10 reactions	MOT60510
mRNA-ONLY Prokaryotic isolation Kit	10 purifications	MOP51010
	24 purifications	MOP51024
mRNA-ONLY Eukaryotic isolation Kit	10 purifications	MOE51010
	24 purifications	MOE51024

產品內容: Terminator™ 5'-Phosphate-Dependent Exonuclease, mRNA-ONLY™ Prokaryotic 10X Reaction Buffer, RiboGuard™ RNase Inhibitor, mRNA-ONLY™ Stop Solution, 5 M LiCl Solution, RNase-Free Water.

- 可針對 single reagent 萃取的 RNA 做進一步純化。
- 完全移除 sample 中殘留的 RT-PCR inhibitors。
- 完全移除 *in vitro* transcription 反應中的酵素、鹽類及 NTP。
- 可移除 RNA 進行 label reaction 後未反應的標定物。
- 特別針對 RNA 所設計的 clean-up kit。
- 可應用於 RT-PCR、DNA/RNA-based chip hybridization、*in vitro* transcription、enzyme or chemical labeling reaction 等相關實驗。
- XS column 最少能放入 5ul，有效提高 RNA 濃度。

RNA Clean-up

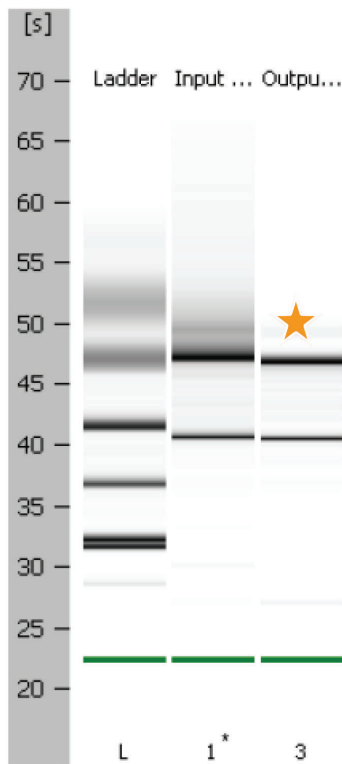


Fig.1 NucleoSpin RNA Clean-up XS 回收率接近 100%。
 Lane 1: Crude RNA (100ul, 85ng/ul)
 Lane 3: RNA Clean-up XS (20ul, 404ng/ul)
 Lane 1 的 crude RNA 經由 NucleoSpin RNA Clean-up XS 回收，可在左圖觀察到 major band 幾乎沒有損失，且經過定量後回收率 >95% (Crude RNA 8500ng / Clean-up RNA 8080ng)。

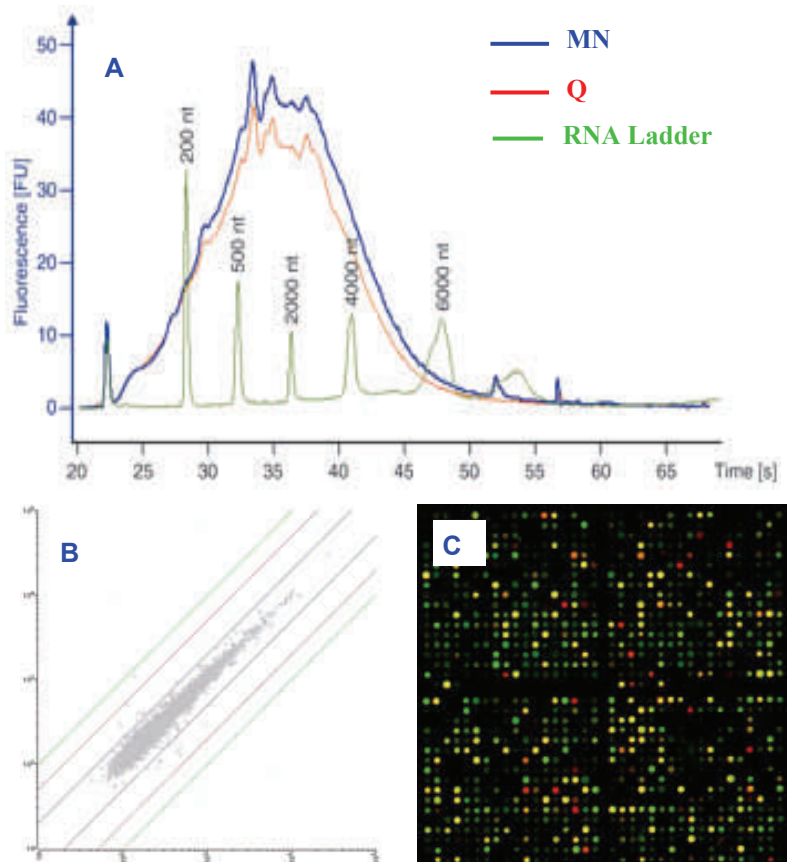


Fig.2 以 rat kidney total RNA 產生的 amino-allyl-aRNA 分別使用 NucleoSpin RNA Clean-up 及 Q 牌同類型產品進行純化。(A) 是使用 Agilent Bioanalyzer 分析 RNA 的結果。NucleoSpin RNA Clean-up 的回收量較 Q 牌多，且 RNA 分佈趨勢也與 Q 牌相同。(A) 圖中 NucleoSpin RNA Clean-up 的 aRNA 可應用在 array analysis (B & C)。



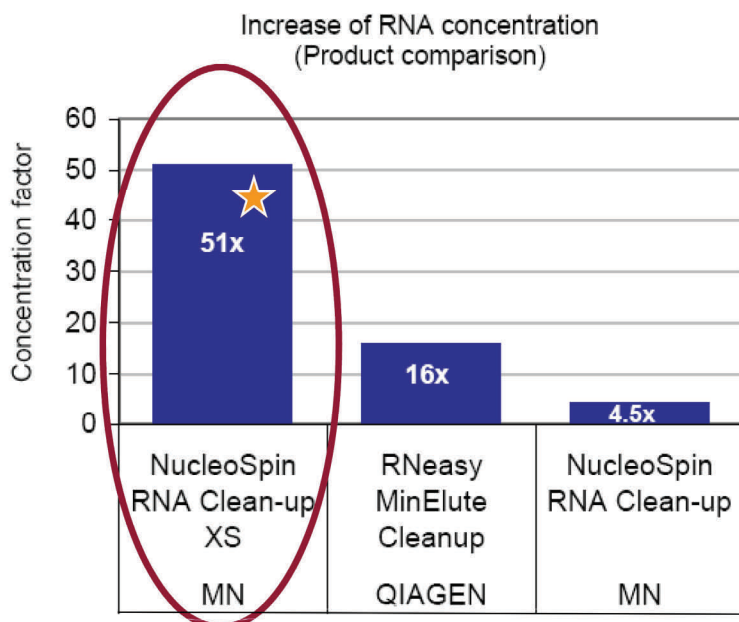


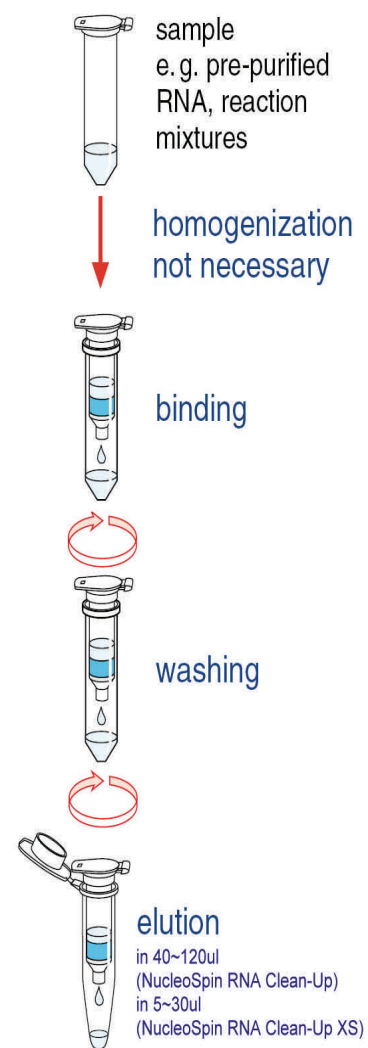
Fig.3 比較 MN NucleoSpin RNA Clean-up 與其他競爭產品對於 RNA 濃縮的效果比較。NucleoSpin RNA Clean-up XS 的濃縮效果最佳。

MN NucleoSpin RNA Clean-up XS 的濃縮效果是 Q 牌同類型產品的 3 倍(51x : 16x) · 即使 NucleoSpin RNA Clean-up 不是專為微量 RNA 設計的 column 仍有 4.5x 的 RNA 濃縮效果。

Product Information

	NucleoSpin® RNA Clean-up	NucleoSpin® RNA Clean-up XS
Technology	Silica – membrane technology	Silica – membrane technology
Format	Mini spin columns	XS spin columns
Sample material	Up to 200µl	Up to 300µl
Fragment Size	>200b	>200b
Typical Recover	85 ~ 95%	85 ~ 95%
A260/280	1.9 - 2.1	1.9 - 2.1
Elution Volume	40 - 100 µl	5 - 20µl
Preparation Time	20min / 6 preps	20min / 6 preps
Binding Capacity	200 µg	90 µg

簡易操作流程



Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
NucleoSpin® RNA Clean-up	10 reactions	740948.10
	50 reactions	740948.50
	250 reactions	740948.250
NucleoSpin® RNA Clean-up XS	10 reactions	740903.10
	50 reactions	740903.50
	250 reactions	740903.250



NucleoSpin® TriPrep

- ▶ 同一支 column 中可同時純化 RNA、DNA、Protein。
- ▶ 高品質的 RNA 及 DNA，可直接應用於後續實驗。

Technology	Silica-membrane technology
Format	Mini spin columns
Sample material	≤ 5 x 10 ⁶ cells* ≤ 30 mg human/animal tissue* ≤ 100 mg plant tissue*
DNA yield	≤ 6 µg
RNA yield	≤ 70 µg
Protein yield	≤ 1200 µg
A ₂₆₀ /A ₂₈₀ DNA	1.7-1.9
A ₂₆₀ /A ₂₈₀ RNA	1.9-2.1
Typical RIN (RNA integrity number)	Depending on sample quality: good quality samples (e.g. fresh HeLa cells or mouse liver) typically result in RIN >9
Elution volume DNA	100 µl
Elution volume RNA	40-120 µl
Resolubilization volume protein	10-100 µl
Preparation time RNA and DNA	45 min/6 preps
Preparation time protein	35 min/6 preps
Binding capacity (RNA)**	200 µg

Sample Material	Sample Amount
Human cells (HeLa)	10 ⁶ cells
Mouse liver	3 mg
Fish (Zebrafish)	30 mg
Plant root (garden cress)	100 mg
Plant leave (garden cress)	100 mg
Yeast	10 ⁸ cells
Bacteria	10 ⁹ cells

操作流程

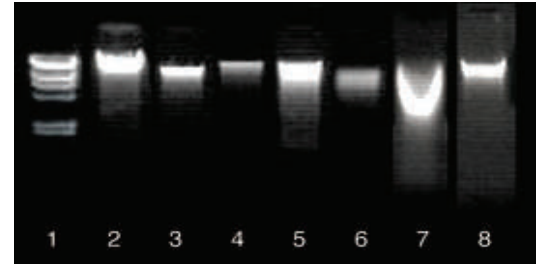
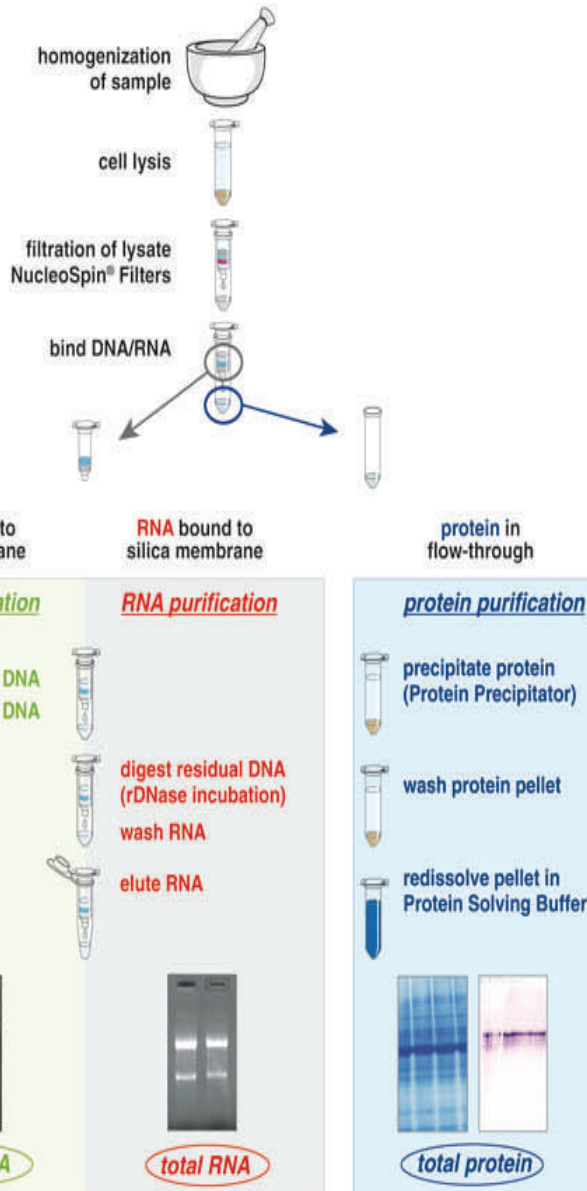


Fig.1 使用 NucleoSpin Triprep 萃取 DNA · A260/280 介於 1.81~1.94。

1. Lamda DNA marker HindIII
2. HeLa
3. Mouse Liver
4. Zebrafish
5. garden cress root
6. garden cress leave
7. Yeast
8. Bacteria

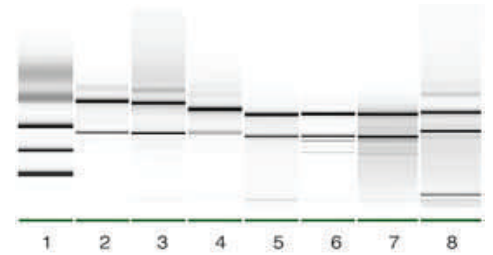


Fig.2 使用 NucleoSpin Triprep 萃取 RNA · 並以 Agilent 2100 分析 RNA · HeLa cell RIN=9.5 · mouse liver RIN=9.1。

1. Lamda DNA marker HindIII
2. HeLa
3. Mouse Liver
4. Zebrafish
5. garden cress root
6. garden cress leave
7. Bacteria
8. Yeast

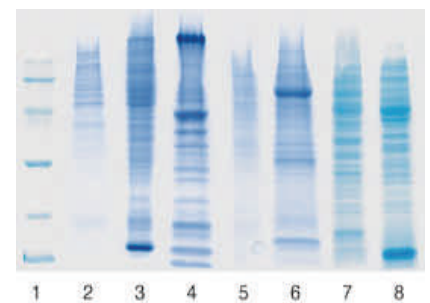


Fig.3 使用 NucleoSpin Triprep 萃取 protein · 以 SDS-PAGE 分析。

1. Lamda DNA marker HindIII
2. HeLa
3. Mouse Liver
4. Zebrafish
5. garden cress root
6. garden cress leave
7. Yeast
8. Bacteria

Ordering Information

產品名稱

包裝

產品編號

NucleoSpin® Triprep

10 / 50 / 250 reactions

740966.10/.50/.250

- ▶ 可同時由 cultured cell 及組織萃取 RNA 及蛋白質
- ▶ 內含 DNase I 提高 RNA 品質
- ▶ 每個反應皆能得到穩定的 RNA 及蛋白質
- ▶ 可應用於 gene expression analysis、siRNA analysis、轉殖動物分析及藥物篩檢

NucleoSpin RNA/Protein 簡易操作流程

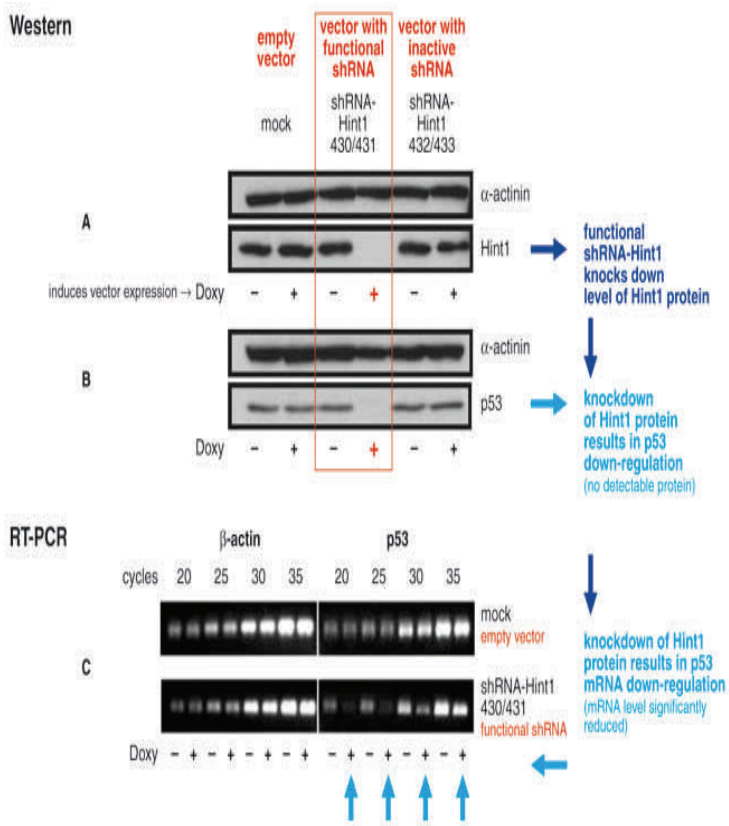
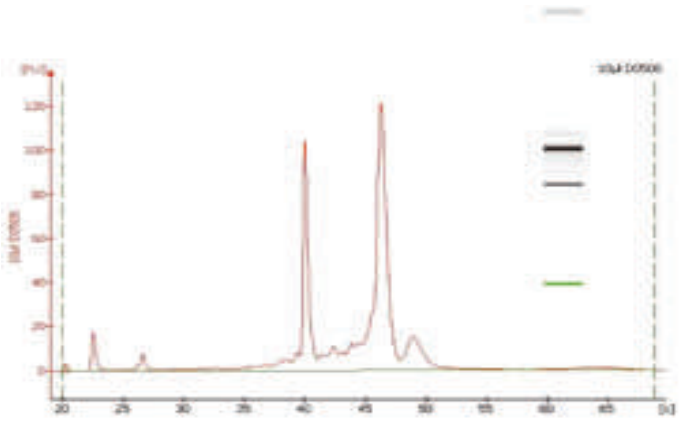
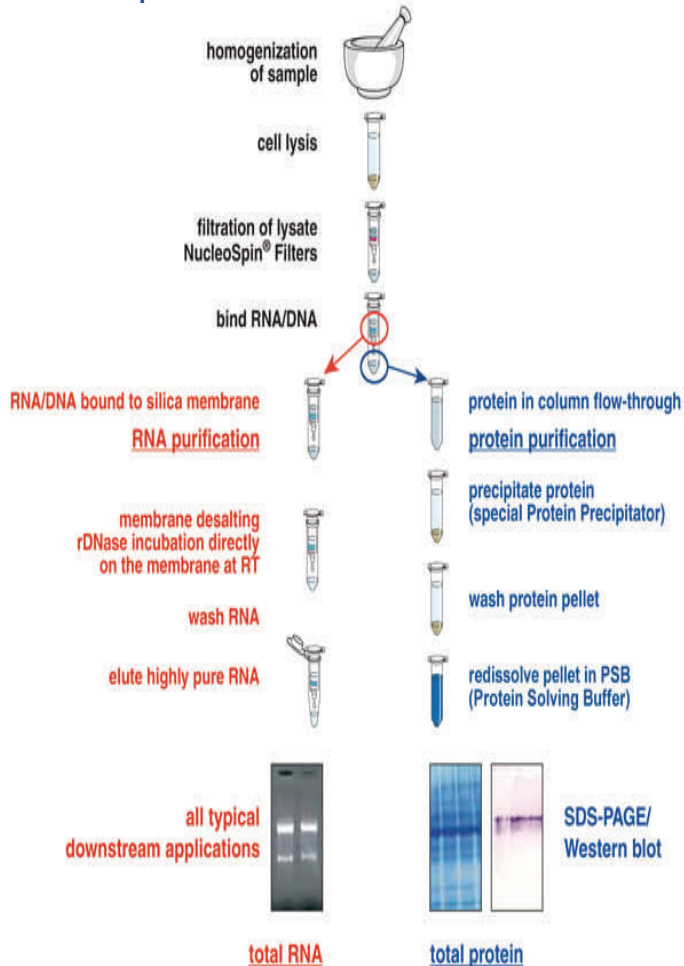


Fig1. Inducible Knock-down of Hint1 in MCF-7 Tet-On cells

這個實驗使用 shRNA 對 Hint1 進行 silence，以證明 Hint1 參與 p53 表現的調控機制。

- A) 3 個 stable cloned，empty vector (mock)、vector with functional shRNA (shRNA-Hint1 430/431) 及 vector with inactive shRNA (shRNA-Hint1 432/433) 分別以 1ug/ml doxycycline 進行 induction，48 小時後萃取 protein，取 50ug 蛋白質以 anti-Hint1 (anti-21) 及 anti-b-actin (control) 進行 western blotting。
- B) & C) 使用 NucleoSpin RNA/Protein 由同一細胞萃取 RNA 與蛋白質，蛋白質(B 圖)使用 western blotting 分析 P53 及 b-actin (control)，RNA 使用 p53 primer 及 b-actin primer (control) 進行 RT-PCR 分析 (C 圖)。

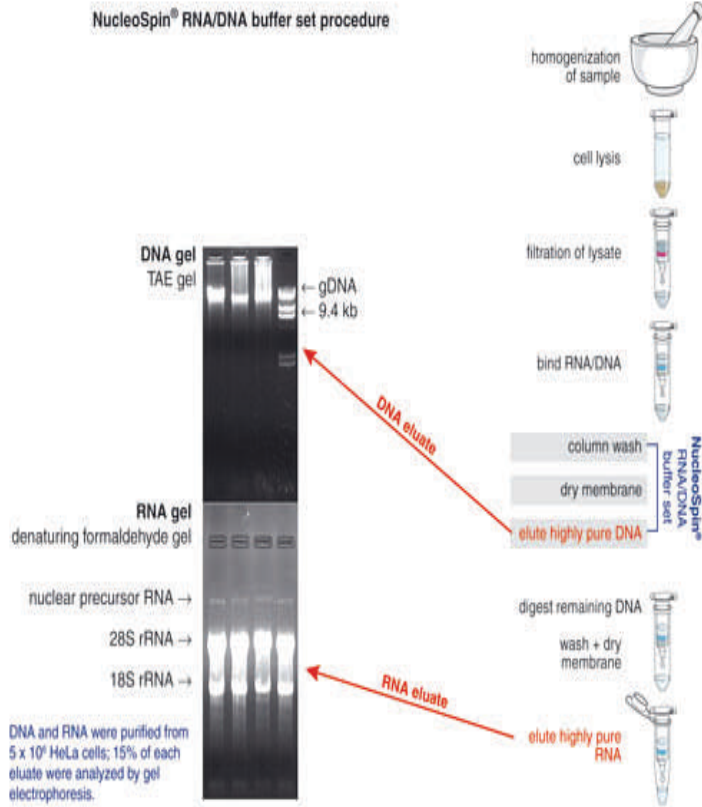
Fig.2 如左圖，使用 NucleoSpin RNA/Protein 由 10⁶ HeLa cells 中萃取 total RNA，並使用 Agilent 2100 分析 RNA。由上圖可知 RNA 的 quality 非常好。

Ordering Information

產品名稱	包裝	產品編號
NucleoSpin RNA /Protein	10/50/250 reactions	740933.10/50/250

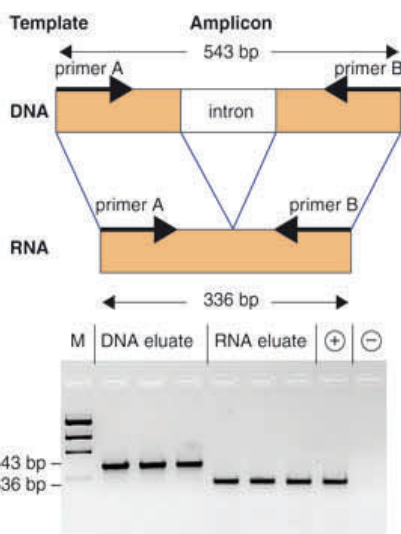
- ▶ 搭配 NucleoSpin RNA II、NucleoSpin RNA XS、NucleoSpin RNA Plant 及 NucleoSpin RNA/Protein kit 使用。
- ▶ 可由同一個 sample 中萃取 RNA 及 DNA
- ▶ 應用於 PCR、RT-PCR、real-time PCR。

NucleoSpin RNA/DNA buffer set 簡易操作流程



Sample type	Sample amount [mg] or [cell number]	DNA yield (µg)	DNA ratio A260/280	RNA yield (µg)	RNA ratio A260/280
HeLa cells	approx. 1x 10 ⁶	5	2,0	20	2,2
HeLa cells	approx. 7x 10 ⁵	3	2,0	11	2,1
kidney, pig	10 mg	3	2,1	12	2,2
kidney, pig	20 mg	3	2,1	15	2,2
liver, pig	20 mg	7	2,2	51	2,2
liver, pig	30 mg	16	2,2	45	2,2
spleen, pig	20 mg	8	2,1	21	2,0
spleen, pig	30 mg	10	2,0	18	2,1
maize leaf	100 mg	5	2,0	77	2,3
maize root	100 mg	1	1,9	15	2,1
parsley leaf	100 mg	8	2,1	25	2,2

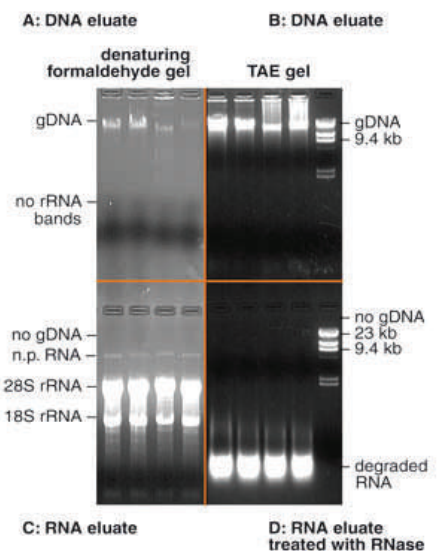
Table.1 使用 NucleoSpin RNA/DNA buffer set 分別萃取動物及植物組織的 DNA 及 RNA 的產量及 A260/280 ratio。



如左圖·使用 ARF1 primer set 分別以 PCR、RT-PCR 偵測 NucleoSpin RNA/DNA buffer set 萃取 HeLa cell 中 DNA 與 RNA 的效能。ARF1 primer set 位於 gDNA intron 的兩側·因此 gDNA PCR 與 RNA RT-PCR product 會有 207bp 大小的差異。

⊕: positive control ⊖: negative control

如右圖·DNA 及 RNA 可同時由 HeLa cells 萃取出使用 NucleoSpin RNA II 搭配 NucleoSpin RNA/DNA buffer set 萃取 5x10⁶ HeLa cells 的 DNA 及 RNA·並分別以 denature gel(A,C)及 TAE agarose gel 分析(B,D)。



Ordering Information

產品名稱

包裝

產品編號

NucleoSpin RNA /DNA buffer set

100 reactions

740944

Bio-Genesis Technologies



Quality & Innovation

創世紀生技有限公司

Bio-Genesis Technology Inc.

<http://www.biogenesis.com.tw>

tech@biogenesis.com.tw ; service@biogenesis.com.tw

服務專線 0800-211-667

台北 02-26558877 竹南 037-687493

台中 04-22602466 高雄 07-3422370 花蓮 03-8463953