

# 采用安捷伦 2200 TapeStation 系统进行 RNA 质量控制 – RIN<sup>®</sup> 质量指标的评价

## 应用简报

核酸分析

### 作者

Arunkumar Padmanaban  
安捷伦科技公司  
印度班加罗尔



### 摘要

本应用简报描述了安捷伦 2200 TapeStation 系统与安捷伦 2100 生物分析仪间的性能比较及基准，后者是 RNA 质量控制的行业标准。2200 TapeStation 系统可对最多 96 个样品进行自动化分析，每个样品的分析时间约为 1 分钟。本应用简报展示了 2200 TapeStation 系统生成的 RIN<sup>®</sup> 与 2100 生物分析仪的 RIN 质量评估之间的高度相关性。此外还展示了 2200 TapeStation 系统在 RNA 质量评估中所得 RIN<sup>®</sup> 的高度重现性。因此，2200 TapeStation 系统是可靠的 RNA 质量控制系统。



Agilent Technologies

## 前言

RNA 的结构完整性是确保微阵列、cDNA 文库构建, RT-PCR 及 RT-qPCR<sup>1</sup> 之类实验成功的最重要因素。采用微阵列技术及 qPCR 进行基因表达研究越来越得到重视, 这就需要可靠耐用的 RNA 完整性分析方法<sup>2</sup>。安捷伦 2100 生物分析仪及其 RNA 完整值 (RIN) 是 RNA 质量评估的行业标准。最新推出的安捷伦 2200 TapeStation 系统建立在 2100 生物分析仪系统的成功之上, 且分析时间更短, 每个样品成本固定的情况下, 通量灵活性提高, 且具有分析 96 孔板的能力。

2200 TapeStation 系统的分析采用现成的消耗品 ScreenTape 预制胶条。安捷伦 R6K ScreenTape 及安捷伦高灵敏度 R6K ScreenTape 包括 16 个独立的泳道。由于 ScreenTape 消耗品中未使用的泳道可留待随后的分析, 因此在每个样品成本固定的情况下, 通量可为 2 到 96 个样品不等。2200 TapeStation 仪器可自动将制备的样品从 8 联管条中或 96 孔板中上样至 R6K ScreenTape。电泳及成像也是在该仪器中自动完成的。2200 TapeStation 软件可为每个样品提供胶图及电泳图谱结果, 并可在短至 1 分钟内进行查看。采用 R6K ScreenTape 及高灵敏度 R6K ScreenTape 进行 RNA 质量分析可得到 RIN 对应值 (RIN<sup>®</sup>)。RIN<sup>®</sup> 的值可在 1 到 10 之间, 其中 10 代表了最高质量的 RNA 样品。本文中, 我们进行了一项对比研究, 比较了 R6K ScreenTape 及高灵敏度 R6K ScreenTape 所得的 RIN<sup>®</sup> 质量评分与 2100 生物分析仪所得的 RIN 质量指标。

## 设备

### 仪器及试剂盒

RNA 6000 Nano 及 RNA 6000 Pico 试剂盒、2100 生物分析仪系统、2200 TapeStation 系统、R6K ScreenTape 及高灵敏度 R6K ScreenTape 试剂盒均来自安捷伦科技 (德国瓦尔德布隆), 并根据制造商说明<sup>3,4,5</sup> 使用。采用安捷伦科技 (美国加利福尼亚州圣克拉拉市) 的总 RNA 分离小提试剂盒, 根据制造商指南<sup>6</sup> 提取 HEK 293 及 HEP G2 细胞的 RNA。

### 样品

总共采用 23 个 RNA 样品进行基准研究, 并分成三种类型:

#### 商品化样品

商品化的不同哺乳动物组织的总 RNA 提取物来自安捷伦科技 (美国圣克拉拉市)。标准品浓度为 1 µg/µL, 包括从人肺、脑、卵巢、肾上腺、心脏、结肠、胎肝及鼠肝和肾中提取的 RNA。利用经佛波醇肉豆蔻酸乙酸酯 (PMA) 处理及未处理的人 Jurkat 细胞系和 Hela 细胞系提取的 RNA 也来自安捷伦科技。1 µL 样品用于 RNA 6000 Nano 及 R6K 试剂盒, 2 µL 用于 RNA 6000 Pico 及高灵敏度 R6K ScreenTape 试剂盒。每个样品在 50 ng/µL 浓度下用 RNA 6000 Nano 及 R6K 试剂盒重复分析四次, 然后稀释成 1000 pg/µL, 并采用 RNA 6000 Pico 及高灵敏度 R6K 试剂盒重复分析四次。

### 降解样品

50 ng/µL 的人 Jurkat 细胞 RNA 样品在 90 °C 下进行连续加热降解。分别在时间点 t = 0、2、5、7、8、9、15 及 18 分钟时对 RNA 进行取样, 然后在冰上孵育以终止降解, 并立即处理进行分析。样品用 RNA 6000 Nano 及 R6K 试剂盒重复分析六次, 然后稀释 50 倍, 并采用 RNA 6000 Pico 及高灵敏度 R6K 试剂盒重复分析六次。

### 提取样品

采用含有 10% FBS 及 1% Pen/Strep 的 MEM 培养基在 37 °C 及含 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养两种细胞系, HEK 293 (购自 ATCC, 美国 ATCC) 和 HEP G2 (Connexious 公司, 印度班加罗尔)。80% 融合度时收获细胞, 冻存在 -80 °C 直到进一步使用。对于 HEK 293, 从 1.76 × 10<sup>6</sup> 细胞/mL 的细胞群中提取 RNA, 而对于 HEP G2, 从 2.2 × 10<sup>6</sup> 细胞/mL 的细胞群中提取 RNA。人胃肠道癌组织中提取的 RNA 样品来自 IOB - 生物信息学研究所 (印度班加罗尔)。这些细胞系和组织的总 RNA 由 2100 生物分析仪及 2200 TapeStation 系统分析, 均重复六次。

所有的分析均在不同的三天内重复三次。

## 结果和讨论

### RNA 分析

商品化样品、降解样品和提取样品组由 2200 TapeStation 系统进行分析。样品制备后上样至 2200 TapeStation 系统。图 1A 说明了在 R6K ScreenTape 上分析不同的 RNA 样品所得的结果。胶图表示每个样品的分离谱，显示了 28S、18S、小 rRNA 及下位内标。每个样品的 RNA 质量由 RIN<sup>®</sup> 值表示，如胶图下数字所示。图 1B 展示了经 PMA 处理的 HeLa 细胞所得总 RNA 的代表性电泳图谱。其中对 28S 及 18S 峰进行了标注。

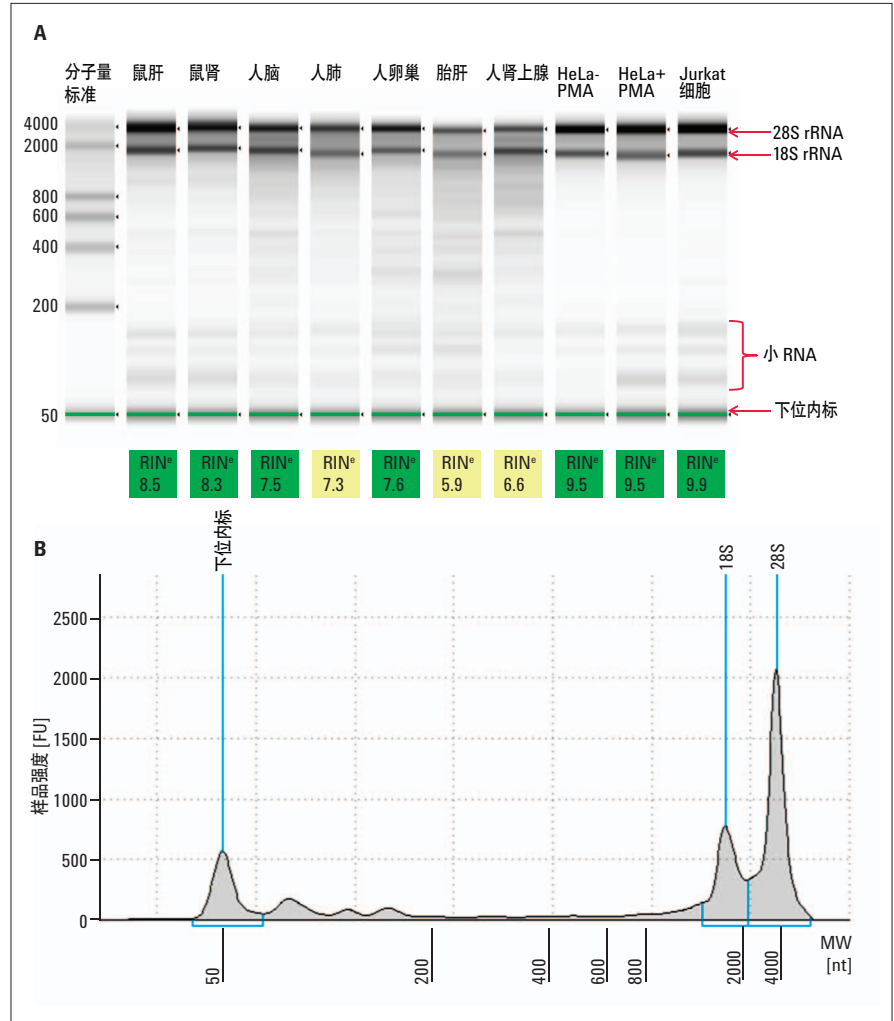


图 1 利用安捷伦 2200 TapeStation 系统进行的 RNA 分析。A) 胶图展示了不同的 RNA 样品。B) 经 PMA 处理的 HeLa 细胞所得总 RNA 的代表性电泳图谱，其中标注了 18/28S 峰。

## 加热降解 RNA 分析

通过分析加热降解的 RNA 样品，评价 2200 TapeStation 系统在降解 RNA 的质量评分中的性能。采用 R6K ScreenTape 及高灵敏度 R6K ScreenTape 分析降解的 Jurkat 细胞总 RNA 样品，并与 2100 生物分析仪系统所得结果进行比较。2200 TapeStation 及 2100 生物分析仪系统的分析均发现随着时间的进展，28S 峰逐步降解，降解产物逐步增加。

图 2 展现了加热降解 RNA 样品的电泳叠加图谱，由 R6K ScreenTape 及 RNA 6000 Nano 试剂盒分析所得。

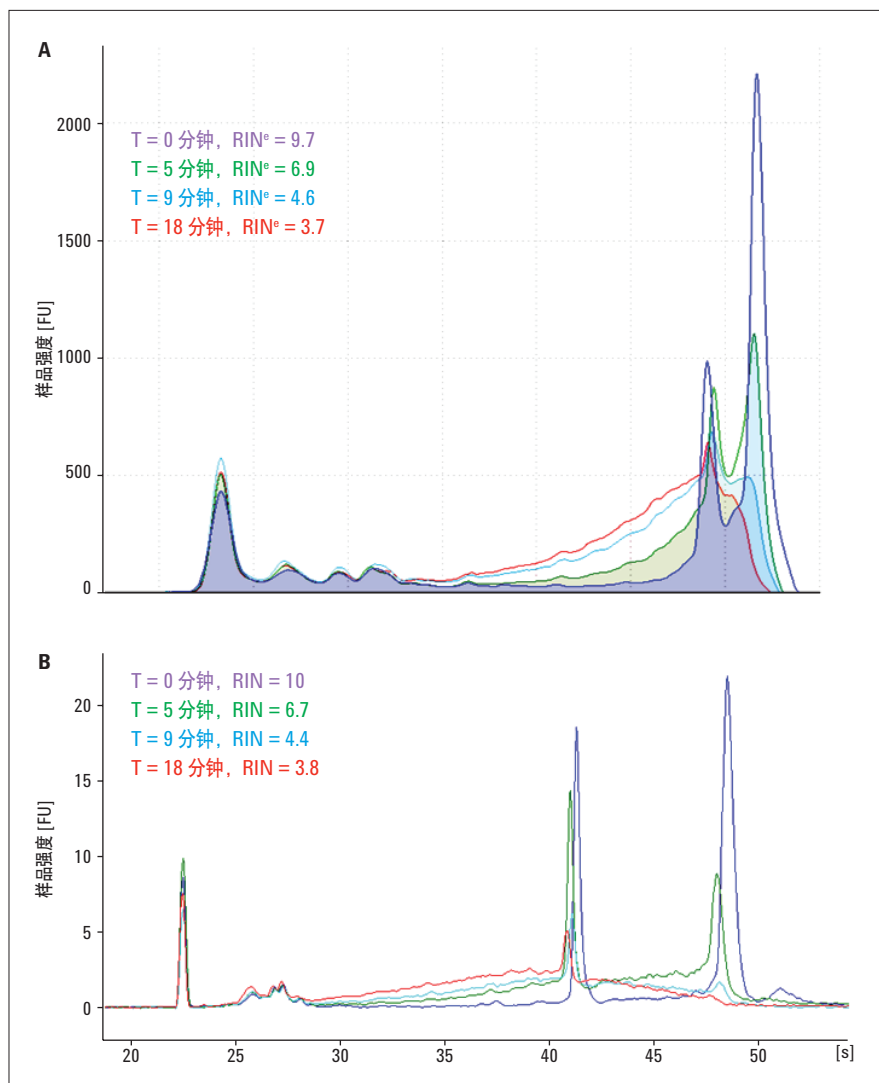


图 2  
加热降解的 Jurkat 细胞 RNA 样品的电泳叠加图谱。A) R6K ScreenTape (安捷伦 2200 TapeStation) 所得结果。  
B) RNA 6000 Nano 试剂盒 (安捷伦 2100 生物分析仪) 所得结果。

### RIN 及 RIN<sup>®</sup> 相关性

RNA 样品，包括商品化样品、降解样品及提取样品均由 2100 生物分析仪及 2200 TapeStation 系统进行分析。取每个样品重复分析的平均 RIN 值，并将其与 TapeStation 所得的平均 RIN<sup>®</sup> 值进行比较（图 3）。该分析说明两个系统具有高度正相关，RNA 6000 Nano 试剂盒与 R6K ScreenTape 间的 R<sup>2</sup> 值为 0.9878，而 RNA 6000 Pico 试剂盒与高灵敏度 R6K ScreenTape 间的 R<sup>2</sup> 值为 0.9474。通常 R6K ScreenTape 所得 RIN 的偏差 <4%，而高灵敏度 R6K ScreenTape 所得偏差 <7%。

单因素方差分析指出 RNA 6000 Nano 试剂盒与 R6K ScreenTape 间 [F (5, 132) = 0.104, p = 0.991]，及 RNA 6000 Pico 试剂盒与高灵敏度 R6K ScreenTape 间 [F (5, 132) = 0.295, p = 0.914] 均无显著性差异。

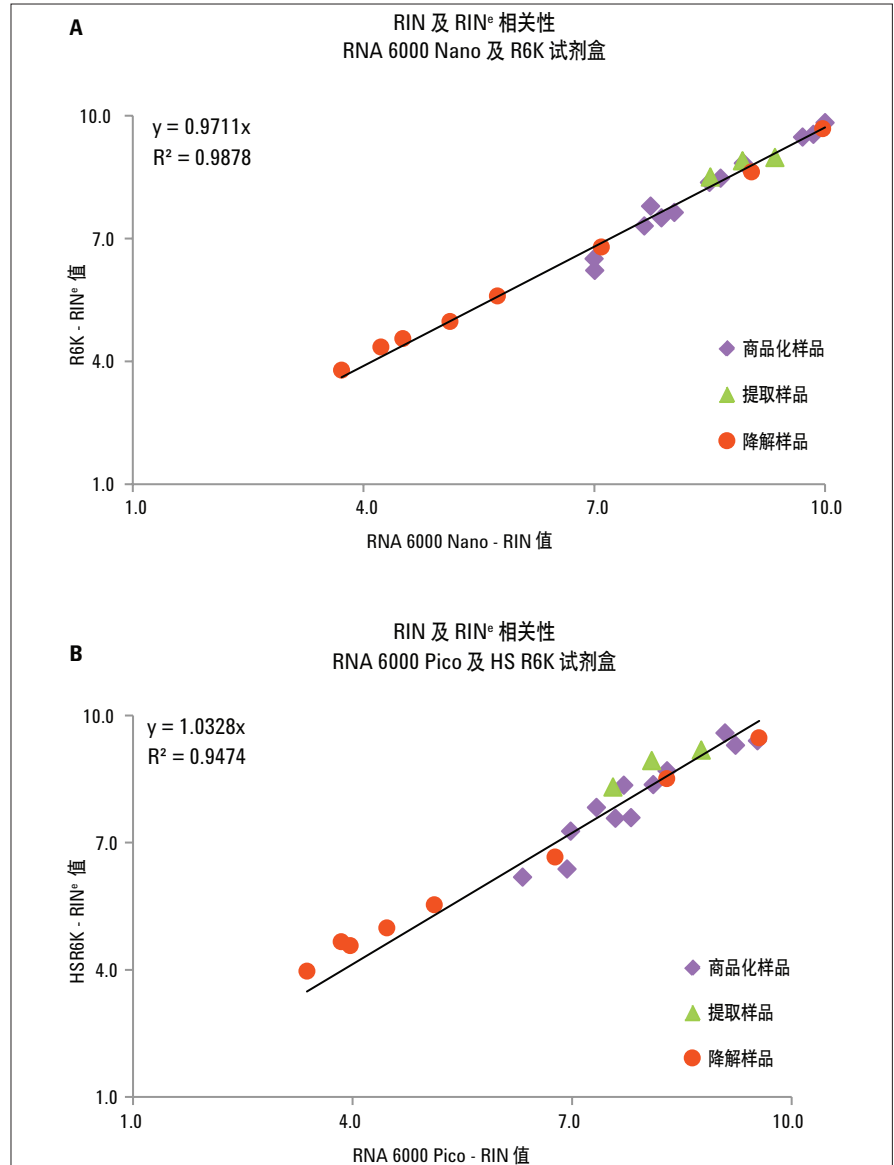


图 3

由商品化、提取及降解的 RNA 样品所得值绘制的相关性曲线

A) RNA 6000 Nano 及 R6K 试剂盒所得的 RIN 及 RIN<sup>®</sup> 值图。B) RNA 6000 Pico 及高灵敏度 R6K 试剂盒所得的 RIN 及 RIN<sup>®</sup> 值图

## 重现性

整理对照 30 个 RNA 6000 Nano 芯片与 27 个 R6K ScreenTape 的结果，以及 36 个 RNA 6000 Pico 芯片与 27 个高灵敏度 R6K ScreenTape 的结果，以此通过与 2100 生物分析仪系统比较，对 2200 TapeStation 系统的重现性进行评估。计算众多样品及不同降解水平得到的 RIN 及 RIN<sup>o</sup> 值的重现性 CV。分别取单个芯片或 ScreenTape 所得样品的平均值，以及多个芯片或 ScreenTape 的平均值，计算分析内及分析间精密度。

表 1 列出了两个系统所得的 %CV。相比 2100 生物分析仪系统，2200 TapeStation 系统的精密度更高，这是因为自动化样品处理及上样可降低人工移液的误差。

分析指标	% CV 均值			
	RNA 6000 Nano	R6K ScreenTape	RNA 6000 Pico	高灵敏度 R6K ScreenTape
分析内精密度	< 3%	< 2%	< 4%	< 2%
分析间精密度	< 3%	< 2.5%	< 6%	< 3%

表 1  
RIN 及 RIN<sup>o</sup> 的精密度

## 结论

安捷伦 2200 TapeStation 系统为 RNA 样品的分析提供了一种简便易用的系统，人工干预可降至最低。R6K 及高灵敏度 R6K ScreenTape 经证实可精确可靠地进行 RNA 质量控制，可媲美安捷伦 2100 生物分析仪系统。2200 TapeStation 系统还在样品重现性方面展示出极高的精密度。

因此，在 RNA 质量评估方面，2200 TapeStation 系统可提供与行业标准 2100 生物分析仪系统媲美的性能。高通量兼容性、简单易用、最少人工干预，以及不论通量大小，每个样品的成本固定，这些新增的优点结合起来，使 2200 TapeStation 系统成为 RNA 质量评估的理想之选。

## 参考文献

1.  
RNA integrity and the effect on the  
real-time qRT-PCR performance,  
*Mol.Aspects Med.* 2-3, 126-139, **2006**
2.  
The MIQE guidelines: minimum  
information for publication of  
quantitative real-time PCR experiments,  
*Clin.Chem.*4, 611-622, **2009**
3.  
Agilent RNA 6000 Nano Kit Guide  
(安捷伦 RNA 6000 Nano 试剂盒说明),  
Agilent Technologies  
(p/n G2938-90034)
4.  
Agilent RNA 6000 Pico Kit Guide  
(安捷伦 RNA 6000 Pico 试剂盒说明),  
Agilent Technologies  
(p/n G2938-90046)
5.  
Agilent R6K ScreenTape System Quick  
Guide (安捷伦 R6K ScreenTape 系统  
快速指南), Agilent Technologies  
(p/n G2964-90020)
6.  
Agilent Total RNA Isolation Mini Kit  
Guide (安捷伦总 RNA 分离小提试剂盒  
指南), Agilent Technologies  
(p/n 5188-2710)

[www.agilent.com/genomics/tapestation](http://www.agilent.com/genomics/tapestation)

© 安捷伦科技(中国)有限公司, 2012

2012年3月1日, 中国出版

5991-0023CHCN



**Agilent Technologies**