

BeyoMag™磁珠法mRNA纯化试剂盒

产品编号	产品名称	包装
R0071S	BeyoMag™磁珠法mRNA纯化试剂盒	50次
R0071M	BeyoMag™磁珠法mRNA纯化试剂盒	200次
R0071L	BeyoMag™磁珠法mRNA纯化试剂盒	800次

产品简介:

- 碧云天的BeyoMag™磁珠法mRNA纯化试剂盒(BeyoMag™ mRNA Purification Kit with Magnetic Beads)是一种使用Oligo (dT)₂₅包被的磁珠, 配合优化的缓冲体系, 用于稳定、高效、便捷地从总RNA中快速分离纯化出高纯度完整mRNA的试剂盒。
- 本试剂盒纯化的mRNA可直接应用于RT-PCR、qPCR、高通量测序、mRNA文库的构建、固相cDNA文库构建、Northern blot分析、RACE等分子生物学实验, 还可用于mRNA疫苗的研发等[1-2]。
- 一个典型的哺乳动物细胞中, 四种主要的大分子的质量和占比为: RNA, ~20pg (1%); DNA, ~7pg (0.3%); protein, ~500pg (20%); polysaccharide (多糖), ~2μg (78.7%)。信使RNA (messenger RNA, 简称mRNA) 约占总RNA质量的4%, 核糖体RNA (ribosomal RNA, 简称rRNA)约占80% [3]。
- 本试剂盒的原理和主要操作流程如图1所示。BeyoMag™ Oligo (dT)₂₅磁珠表面共价修饰了25聚dT序列即Oligo (dT)₂₅, 当真核细胞、动植物组织抽提的总RNA与BeyoMag™ Oligo (dT)₂₅磁珠混合后, 磁珠表面的寡聚dT序列与mRNA 3'端的poly(A)进行碱基配对而特异性结合, 然后在外界磁场的作用下, 磁珠与相应溶液可以快速而高效地分离, 经洗涤充分去除杂质, 最后用洗脱液将mRNA从磁珠上洗脱下来, 即可获得高纯度完整mRNA[4-5]。

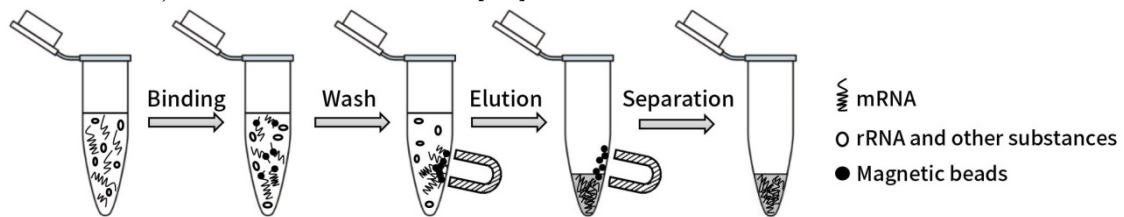


图1. BeyoMag™磁珠法mRNA纯化试剂盒(R0071)的工作原理示意图。

- 本试剂盒具有提取效果稳定、纯度高、速度快、操作便捷等优点。本试剂盒的mRNA提取体系经过反复测试和优化, 能分离纯化获得总RNA中90%以上的mRNA。仅需孵育、洗涤、洗脱等简单的操作, 整个纯化过程不超过15分钟即可完成。所有操作都在同一个离心管中完成, 操作便捷。细胞中提取的total RNA使用本产品进行mRNA的纯化效果参考图2。

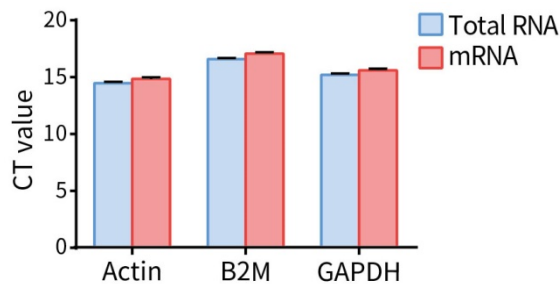


图2. BeyoMag™磁珠法mRNA纯化试剂盒(R0071)用于从总RNA纯化mRNA的效果图。使用RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式) (R0024)抽提293T细胞的总RNA, 再使用本产品进行mRNA的纯化, 然后使用BeyoFast™ SYBR Green One-Step qRT-PCR Kit (D7268)进行qRT-PCR检测, 使用Actin、B2M和GAPDH三种内参引物对比总RNA (Total RNA)和纯化的mRNA的Ct值。图中可见mRNA纯化前后的Ct值基本一致, 说明mRNA的纯化效果接近100%。实际结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中数据仅供参考。

- 本试剂盒中的BeyoMag™ Oligo (dT)₂₅磁珠粒径约为200nm, 浓度约为5mg/ml。每毫克磁珠偶联的Oligo (dT)₂₅约为300-400pmol, 每毫克磁珠可纯化约2-3μg mRNA。
- 对于常规的mRNA纯化, 按照每个样品使用20μl磁珠悬浊液, 本试剂盒小包装可用于50次mRNA纯化, 中包装可用于200次mRNA纯化, 大包装可用于800次mRNA纯化。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
R0071S-1	BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ 磁珠	1ml
R0071S-2	溶液I (结合液)	30ml
R0071S-3	溶液II (洗涤液)	25ml
R0071S-4	溶液III (洗脱液)	2ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0071M-1	BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ 磁珠	4ml
R0071M-2	溶液I (结合液)	120ml
R0071M-3	溶液II (洗涤液)	100ml
R0071M-4	溶液III (洗脱液)	8ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0071L-1	BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ 磁珠	16ml
R0071L-2	溶液I (结合液)	480ml
R0071L-3	溶液II (洗涤液)	400ml
R0071L-4	溶液III (洗脱液)	32ml
—	说明书	1份

保存条件：

4°C保存，一年有效。其中BeyoMag™ Oligo (dT)₂₅磁珠长期不使用时，可以-20°C保存，-20°C可以保存更长时间。

注意事项：

- 操作过程要严格保证无RNA酶和DNA酶污染。对于操作环境中RNase的去除，推荐使用碧云天生产的RNase and DNase Away (R0123)以去除实验桌面上或其它接触面上的RNase。
- 本产品的所用试剂和耗材都要求是RNase-free和DNase-free的，操作时应小心，避免被污染。如果耗材可能有RNase污染，可考虑用0.01%的DEPC水浸泡过夜，然后高温高压灭菌并烘干。如果可能有DNase污染，通常高温高压灭菌可以使DNase灭活。
- 需自备磁分离装置，推荐使用碧云天的BeyoMag™磁分离架系列产品(FMS004、FMS008、FMS012、FMS016或FMS024)。
- 分装或使用磁珠时，请适当涡旋震荡或反复颠倒以确保磁珠充分混匀。
- 磁分离前应适度震荡离心管使磁珠充分分散后再靠近磁场。如果出现磁珠挂壁现象，可以在磁珠聚集后晃动管内液体，使挂壁的磁珠流下。
- 请使用推荐的总RNA量。如果总RNA量过大，可能造成磁珠聚集，会影响洗涤进而影响提取获得的mRNA纯度。发生磁珠聚集时，洗涤时需尽量分散磁珠，这样可有效改善提取效果。如果发生磁珠聚集现象，建议在后续实验中适当减少总RNA量。
- 由于RNA容易降解，提取获得的mRNA推荐尽快用于RT-PCR等后续实验。如果不能尽快使用，需要-80°C保存。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 准备工作。

- 溶液I (结合液)和溶液II (洗涤液)使用前平衡至室温。溶液III (洗脱液)在使用前置于冰上或者2-8°C保存。如果溶液I (结合液)或溶液II (洗涤液)有沉淀，适当水浴或者振荡溶解。
- BeyoMag™ Oligo (dT)₂₅磁珠的准备。
 - 将磁珠溶液从4°C冰箱取出，适当涡旋震荡或反复颠倒以确保磁珠充分混匀。参考下表，根据总RNA量和样品数量，取适量的BeyoMag™ Oligo (dT)₂₅磁珠悬液至一洁净离心管中。推荐使用BeyoGold™ 1.5毫升离心管(无色，Nuclease free) (FTUB306)。

Total RNA	Beads required	Solution I for
1~10µg	20µl	200µl each time
10~30µg	40µl	200µl each time
30-50µg	100µl	200µl each time

- 无论磁珠用量多少，按照每个样品200µl溶液I (结合液)的量，加入适量溶液I (结合液)洗涤磁珠，用移液器轻轻吹打重悬磁珠。置于磁力架上分离30秒，去除上清。重复本步骤1次。说明：如果样品数量超过5个，可以考虑将适量磁珠悬液先直接置于磁力架上分离30秒，去除上清，然后根据样品数量再加入适量溶液I (结合液)洗涤2次。
- 按照每个样品100µl溶液I (结合液)的量，加入适量溶液I (结合液)重悬磁珠。

2. 从Total RNA中纯化mRNA (以Total RNA的量为20µg为例)。

- a. 取100µl含有20µg Total RNA的样品与**100µl溶液I (结合液)**混合。注：如果20µg Total RNA不足100µl，可以用DEPC水或其它适当Nuclease-free溶液补足至100µl。
- b. 65°C孵育2分钟以打开RNA的二级结构，孵育结束后迅速置于冰上。
- c. 将该200µl混合液与**100µl洗涤后的磁珠**在室温下旋转混合5分钟。
- d. 置于磁力架上分离1分钟，去除上清。
- e. 室温下用**200µl溶液II (洗涤液)**洗涤磁珠，磁分离30秒，去上清。重复本步骤1次。
- f. 根据后续实验需求，进行mRNA的洗脱：
 - (a) 从磁珠上洗脱mRNA：加入**10-20µl溶液III (洗脱液)**或Nuclease-free的水，如DEPC水(R0021/R0022)或BeyoPure™ Ultrapure Water (DNase/RNase-Free, Sterile) (ST876)，75-80°C孵育2分钟，磁分离30秒，然后将上清转移到新的Nuclease-free的离心管中，置于冰上待用。
注：建议转移上清时保留少量液体以免吸到磁珠影响后续实验。纯化获得的mRNA极易降解，建议尽快进行后续实验。短时间内不使用，请置于-80°C保存。
 - (b) 如果mRNA不洗脱直接用于后续实验，如固相cDNA文库构建等，用后续实验中相应的缓冲液再洗涤一次，即可用于后续实验。

参考文献：

1. Wommer L, Soerjawanata W, Ulber R, Kampeis P. Eng Life Sci. 2021. 21(10): 558–572.
2. Chaudhary N, Weissman D & Whitehead K A. Nat Rev Drug Discov. 2021.20, 817–838.
3. Wu J, Xiao J, Zhang Z, Wang X, Hu S, Yu J. Genomics Proteom Bioinforma. 2014. 12(2):57-63.
4. Michael R Green, Joseph Sambrook. Cold Spring Harb Protoc. 2019.10:711-714.
5. Nicholas M. Adams, Hali Bordelon, et al. ACS Applied Materials & Interfaces. 2015. 7(11):6062-6069.

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
R0071S	BeyoMag™磁珠法mRNA纯化试剂盒	50次
R0071M	BeyoMag™磁珠法mRNA纯化试剂盒	200次
R0071L	BeyoMag™磁珠法mRNA纯化试剂盒	800次
R0073S	BeyoMag™磁珠法动物mRNA抽提试剂盒	50次
R0073M	BeyoMag™磁珠法动物mRNA抽提试剂盒	200次
R0073L	BeyoMag™磁珠法动物mRNA抽提试剂盒	800次
R0075-1ml	BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ Magnetic Beads (mRNA磁珠)	1ml
R0075-5ml	BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ Magnetic Beads (mRNA磁珠)	5ml
R0075-20ml	BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ Magnetic Beads (mRNA磁珠)	20ml
R0075-100ml	BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ Magnetic Beads (mRNA磁珠)	100ml
R0077S	BeyoMag™磁珠法动物RNA抽提试剂盒	10次
R0077M	BeyoMag™磁珠法动物RNA抽提试剂盒	50次
R0077L	BeyoMag™磁珠法动物RNA抽提试剂盒	200次
R0081-1ml	BeyoMag™ RNA Clean Magnetic Beads (RNA纯化磁珠)	1ml
R0081-5ml	BeyoMag™ RNA Clean Magnetic Beads (RNA纯化磁珠)	5ml
R0081-20ml	BeyoMag™ RNA Clean Magnetic Beads (RNA纯化磁珠)	20ml
R0081-100ml	BeyoMag™ RNA Clean Magnetic Beads (RNA纯化磁珠)	100ml

Version 2023.05.26