

## BeyoMag™磁珠法动物mRNA抽提试剂盒

产品编号	产品名称	包装
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

### 产品简介:

- 碧云天的BeyoMag™磁珠法动物mRNA抽提试剂盒(BeyoMag™ Animal mRNA Isolation Kit with Magnetic Beads)是一种使用Oligo (dT)<sub>25</sub>包被的磁珠, 配合优化的缓冲体系, 用于稳定、高效、便捷地从动物组织或培养的动物细胞中快速分离纯化获得高纯度完整mRNA的试剂盒。
- 本试剂盒抽提的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]。
- 本产品抽提的poly(A) RNA中也可以包含带有poly(A)的lncRNA等, 但通常主要为mRNA, 因此被称为mRNA抽提试剂盒。
- 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)<sub>25</sub>磁珠表面共价修饰了25聚dT序列即Oligo (dT)<sub>25</sub>, 当真核细胞、动植物组织的裂解液与BeyoMag™ Oligo (dT)<sub>25</sub>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]。

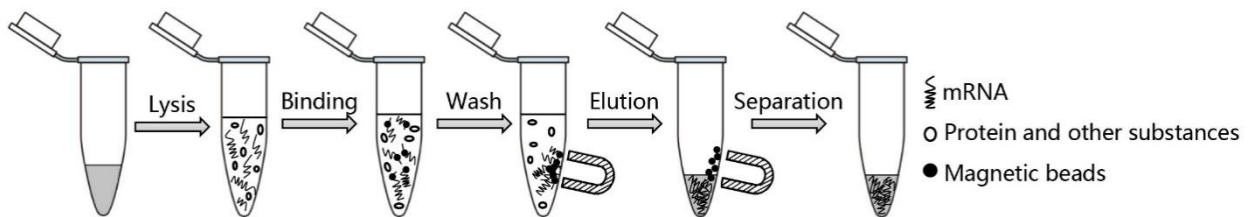


图1. BeyoMag™磁珠法动物mRNA抽提试剂盒(R0073)的工作原理示意图。

- **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, 能从10<sup>6</sup>个细胞中抽提约0.1-1μg mRNA, 20mg小鼠肝组织能抽提约0.2-2μg mRNA, 20mg小鼠肺组织能抽提约0.1-1μg 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。本试剂盒的检测效果及与离心柱式动物RNA抽提试剂盒、国外同类产品Competitor C的检测效果比较参见图2。

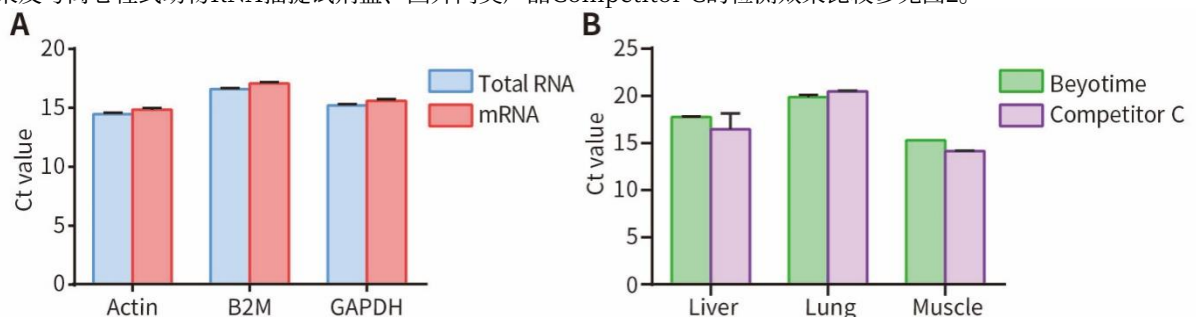


图2. BeyoMag™磁珠法动物mRNA抽提试剂盒(R0073)用于从HEK293T细胞和小鼠组织中抽提mRNA的效果图。图A为使用RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)(R0024)及本试剂盒分别抽提HEK293T细胞的总RNA和mRNA, 然后使用BeyoFast™ SYBR Green One-Step qRT-PCR Kit (D7268)和Actin、B2M和GAPDH的三对内参引物进行qRT-PCR检测, 图中可见使用本试剂盒抽提的mRNA与离心柱式动物RNA抽提试剂盒抽提的总RNA, qPCR检测的Ct值基本一致。图B为本试剂盒及国外同类产品Competitor C抽提小鼠组织(肝脏、肺和肌肉)的mRNA, 然后使用BeyoFast™ SYBR Green One-Step qRT-PCR Kit (D7268)和GAPDH内参引物进行qRT-PCR检测, 图中可见使用本试剂盒及国外同类产品Competitor C抽提的mRNA, qPCR检测的Ct值基本一致。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)<sub>25</sub>磁珠粒径约为200nm，浓度约为5mg/ml。每毫克磁珠偶联的Oligo (dT)<sub>25</sub>约为300-400pmol，每毫克磁珠可纯化约2-3μg mRNA，每毫升磁珠可以纯化约10-15μg mRNA。
- 对于常规的mRNA抽提，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抽提，中包装可用于200次mRNA抽提，大包装可用于800次mRNA抽提。

#### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
R0073S-1	BeyoMag™ Oligo (dT) <sub>25</sub> 磁珠	1ml
R0073S-2	溶液I (结合液)	30ml
R0073S-3	溶液II (裂解液)	30ml
R0073S-4	溶液III (洗涤液I)	30ml
R0073S-5	溶液IV (洗涤液II)	60ml
R0073S-6	溶液V (洗脱液)	5ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0073M-1	BeyoMag™ Oligo (dT) <sub>25</sub> 磁珠	4ml
R0073M-2	溶液I (结合液)	120ml
R0073M-3	溶液II (裂解液)	120ml
R0073M-4	溶液III (洗涤液I)	120ml
R0073M-5	溶液IV (洗涤液II)	240ml
R0073M-6	溶液V (洗脱液)	20ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0073L-1	BeyoMag™ Oligo (dT) <sub>25</sub> 磁珠	16ml
R0073L-2	溶液I (结合液)	480ml
R0073L-3	溶液II (裂解液)	480ml
R0073L-4	溶液III (洗涤液I)	480ml
R0073L-5	溶液IV (洗涤液II)	480ml×2
R0073L-6	溶液V (洗脱液)	80ml
—	说明书	1份

#### 保存条件：

4°C保存，一年有效。其中BeyoMag™ Oligo (dT)<sub>25</sub>磁珠长期不使用时，可以-20°C保存，-20°C可以保存更长时间。整个试剂盒-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)。
- 温度较低时，溶液II (裂解液)可能会有沉淀产生。使用前必须检查一遍。如有沉淀，可置于室温或者37°C水浴溶解，混匀后使用。
- 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。
- 请使用推荐的细胞量或组织量，否则可能造成磁珠聚集，会影响洗涤进而影响抽提获得的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细胞量和总组织量。
- 由于mRNA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。

- a. 溶液I (结合液)、溶液II (裂解液)、溶液III (洗涤液I)和溶液IV (洗涤液II)使用前平衡至室温。溶液V (洗脱液)在使用前置于冰上或者2-8°C保存。如果溶液有沉淀, 适当水浴或者振荡溶解。
- b. 细胞样品的准备。
  - (a) 贴壁细胞用PBS洗涤一次; 悬浮细胞1000-2000×g室温离心5分钟, 弃上清, 用PBS洗涤一次。
  - (b) 按照细胞量加入推荐的溶液II (裂解液)。通过移液器吹打多次, 裂解细胞至溶液变粘稠。
  - (c) 选做: 加入溶液II (裂解液)后样品可能会比较粘稠, 可适当超声或使用1ml注射器反复抽吸打断基因组DNA从而使粘稠感消失。此操作会产生泡沫, 但不影响mRNA的得率。
  - (d) 4°C以14,000×g离心5分钟, 并将上清转移至一个新的离心管。上清可用于mRNA纯化, 或保存在-80°C备用。
- c. 动物组织样品的准备。
  - (a) 取所需量的动物组织, 置于液氮中研磨成粉末, 立即加入推荐量的溶液II (裂解液)。也可将组织置于1.5ml离心管中, 迅速加入推荐量的冰浴预冷的溶液II (裂解液), 用微型电动匀浆器匀浆, 或者用普通玻璃匀浆器进行匀浆。
  - (b) 4°C以14,000×g离心5分钟, 并将上清转移至一个新的离心管。上清可用于mRNA纯化, 或保存在-80°C备用。
- d. BeyoMag™ Oligo (dT)<sub>25</sub>磁珠的准备。
  - (a) 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, 根据总细胞量或组织重量和样品数量, 取适量的BeyoMag™ Oligo (dT)<sub>25</sub>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)。

Cell number	Tissue mass	Lysis Buffer	Beads	Wash Solution I	Wash Solution II
<5×10 <sup>5</sup>	<5mg	100μl	20μl	500μl	500μl each time
1~2×10 <sup>6</sup>	5~20mg	300μl	40μl	500μl	500μl each time
3~5×10 <sup>6</sup>	20~50mg	600μl	100μl	500μl	500μl each time

- (b) 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。
- (c) 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. 从细胞或组织样品中抽提mRNA。

- a. 取上述制备好的细胞或组织样品与100μl洗涤后的磁珠在室温下旋转混合5分钟。
- b. 置于磁力架上分离1分钟, 去除上清。
- c. 室温下用500μl溶液III (洗涤液I)洗涤磁珠, 磁分离30秒, 去上清。
- d. 室温下用500μl溶液IV (洗涤液II)洗涤磁珠, 磁分离30秒, 去上清。重复本步骤1次。
- e. 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V (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500μl溶液IV (洗涤液II)洗涤一次, 再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) <sub>25</sub> Magnetic Beads (mRNA磁珠)	1ml
R0075-5ml	BeyoMag™ Oligo (dT) <sub>25</sub> Magnetic Beads (mRNA磁珠)	5ml

R0075-20ml	BeyoMag™ Oligo (dT) <sub>25</sub> Magnetic Beads (mRNA磁珠)	20ml
R0075-100ml	BeyoMag™ Oligo (dT) <sub>25</sub> 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