

BeyoMag™ Oligo (dT)₂₅ Magnetic Beads (mRNA磁珠)

产品编号	产品名称	包装
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

产品简介:

- 碧云天的BeyoMag™ Oligo (dT)₂₅ Magnetic Beads (mRNA磁珠), 也称mRNA Magnetic Beads或Oligo dT磁珠(Oligo dT Magnetic Beads), 是一种使用Oligo (dT)₂₅包被的磁珠, 可与mRNA等尾部的poly(A)互补配对, 用于稳定、高效、便捷地直接从动物组织或培养的动物细胞中或从总RNA中快速分离纯化获得高纯度完整的带有poly(A)的mRNA等RNA的磁珠。
- 本产品纯化的带有poly(A)的mRNA、lncRNA等, 可直接应用于RT-PCR、qPCR、高通量测序、mRNA文库的构建、mRNA的m⁶A等修饰分析、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, 如mRNA疫苗的纯化、3' Poly A尾长度检测时Poly A尾短链的分离纯化等[1-2]。
- 本产品分离纯化的poly(A) RNA中也可包含带有poly(A)的lncRNA等, 但通常主要为mRNA, 因此也常被称为mRNA磁珠。
- 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]。
- **本产品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、动植物组织的裂解液或抽提的总RNA与BeyoMag™ Oligo (dT)₂₅磁珠混合后, 磁珠表面的寡聚dT序列与mRNA等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等从磁珠上洗脱下来, 即可获得高纯度完整mRNA等带有poly(A)的RNA[4-5]。

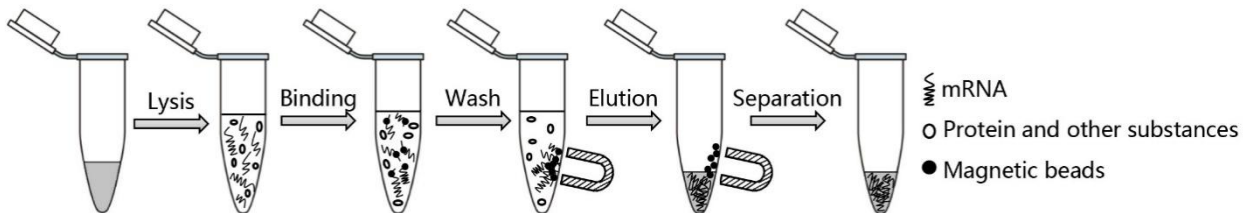


图1. BeyoMag™ Oligo (dT)₂₅ Magnetic Beads (mRNA磁珠) (R0075)用于mRNA抽提的工作原理示意图。

- **本产品盒具有提取效果稳定、纯度高、速度快、操作便捷等优点。** 本产品的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, 能从10⁶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。仅需裂解、结合、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。提取的total RNA使用本产品进行mRNA的纯化效果参考图2。

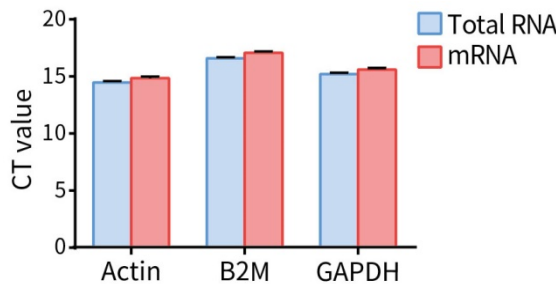


图2. BeyoMag™ Oligo (dT)₂₅ Magnetic Beads (mRNA磁珠) (R0075)用于从总RNA中纯化mRNA的效果图。使用RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式) (R0024)抽提293T细胞的总RNA, 同时使用本产品进行mRNA的纯化, 然后使用BeyoFast™ SYBR Green One-Step qRT-PCR Kit (D7268)进行qRT-PCR检测, 使用Actin、B2M和GAPDH的三对内参引物对比总RNA (Total RNA)和纯化的mRNA的Ct值。图中可见mRNA纯化前后的Ct值基本一致, 说明mRNA的纯化效果接近100%。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。

- 本产品磁珠粒径约为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等poly(A) RNA，即每毫升磁珠可以纯化约10-15μg mRNA等poly(A) RNA。
- 对于常规的mRNA纯化，按照每个样品使用20μl磁珠悬浊液，每1ml本磁珠可用于50次mRNA纯化。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
R0075-1ml	BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ Magnetic Beads	1ml
R0075-5ml	BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ Magnetic Beads	5ml
R0075-20ml	BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ Magnetic Beads	20ml
R0075-100ml	BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ Magnetic Beads	100ml
—	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。
- 请使用推荐的样本量。如果样本量过大，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样本量。
- 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。

- 缓冲液的准备。根据实验需要配制相关缓冲液，参考配方如下配制：

Buffers	Recipe
Binding Buffer	20mM Tris-HCl (pH7.5), 1M LiCl, 2mM EDTA
Lysis Buffer	100mM Tris-HCl (pH7.5), 500mM LiCl, 10mM EDTA, 1% LiDS, 5mM DTT
Washing Buffer I	10mM Tris-HCl (pH7.5), 150mM LiCl, 1mM EDTA, 0.1% LiDS
Washing Buffer II	10mM Tris-HCl (pH7.5), 150mM LiCl, 1mM EDTA
Elution Buffer	10mM Tris-HCl (pH7.5)

注：试剂和耗材的RNase-free要求参见注意事项；试剂在使用时平衡至室温，如有沉淀，可37°C预热10分钟。

- 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。

- 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。

- BeyoMag™ Oligo (dT)₂₅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RNA量和总细胞量或组织重量，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	Washing Buffer II
1~10µg	20µl	200µl each time
10~30µg	40µl	200µl each time
30-50µg	100µl	200µl each time

Cell number	Tissue mass	Lysis Buffer	Beads	Washing Buffer	Washing Buffer
<5×10 ⁵	<5mg	100µl	20µl	500µl	500µl each time
1~2×10 ⁶	5~20mg	300µl	40µl	500µl	500µl each time
3~5×10 ⁶	20~50mg	600µl	100µl	500µl	500µl each time

(b) 无论磁珠用量多少，按照每个样品200µl结合液量，加入适量结合液洗涤磁珠，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结合液洗涤2次。

(c) 按照每个样品100µl结合液量，加入适量溶液结合液重悬磁珠。

2. 从细胞或组织样品中分离纯化mRNA。

a. 取上述制备好的细胞或组织样品与**100µl洗涤后重悬的磁珠**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洗涤液I**洗涤磁珠，磁分离30秒，去上清。

d. 室温下用**500µl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。

3. 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洗涤后重悬的磁珠**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 洗涤液II**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	1000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	1000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