

## BeyoMag™磁珠法动物RNA抽提试剂盒

产品编号	产品名称	包装
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

### 产品简介:

- 碧云天的BeyoMag™磁珠法动物RNA抽提试剂盒(BeyoMag™ Animal RNA Isolation Kit with Magnetic Beads)是一种使用新型核酸纯化介质包被的磁珠, 可以从动物组织或培养的动物细胞中安全、便捷、稳定、高效、高质量地抽提总RNA的试剂盒。抽提获得的RNA包含大分子量RNA和小RNA(<200nt), 也常被称为总RNA(Total RNA), 可以用于各种常规分子生物学和生化检测等用途。
- 本试剂盒抽提得到的RNA可用于反转录、RT-PCR、qPCR、Northern、点杂交(Dot Blot)、纯化mRNA、体外翻译、RNase protection assay、cDNA克隆等下游实验; 也可用于基因表达芯片分析(microarray)、高通量测序(high throughput sequencing)等对RNA质量要求较高的情况。
- 动物组织或细胞中的RNA按照长度可以分为长链RNA(long RNA)和小RNA(small RNA), 长链RNA通常大于200nt, 而小RNA通常小于200nt。长链RNA按照是否编码蛋白或多肽可以分为长链非编码RNA(long noncoding RNA, lncRNA)和mRNA[1]。小RNA主要包括非编码的5.8S rRNA(ribosomal RNA)、5S rRNA、tRNA(transfer RNA)、microRNA(miRNA)、siRNA(small interfering RNA)、piRNA(Piwi-associated small RNA)、tsRNA(tRNA-derived small RNA)、srRNA(small rDNA-derived RNA)等[2]。
- 本试剂盒抽提RNA的基本流程如图1所示。样品在裂解液中迅速裂解, 释放出总RNA, 然后让RNA特异性地结合到磁珠上, 再通过3次洗涤充分去除非特异性结合的蛋白、盐等杂质, 最后用洗脱液将高纯度的RNA洗脱下来。

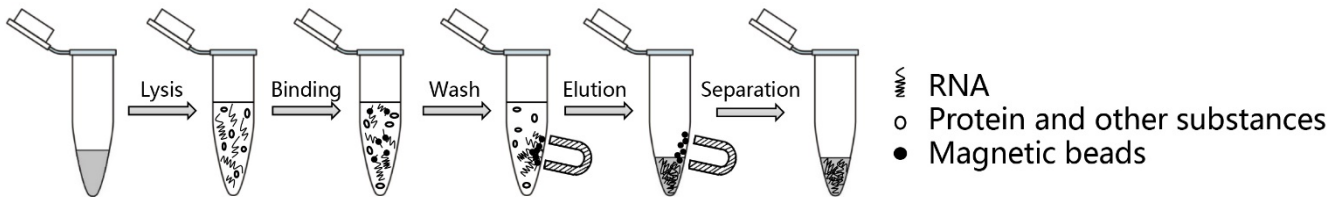


图1. BeyoMag™磁珠法动物RNA抽提盒(R0077)抽提RNA原理的示意图。

- **本试剂盒使用安全。**本试剂盒通过特殊的磁珠纯化介质进行RNA分离纯化, 能有效避免传统的Trizol法抽提时使用的酚、氯仿等有毒有害有机试剂。
- **本试剂盒使用便捷。**本试剂盒采用磁珠纯化, 无需繁琐的RNA沉淀步骤, 抽提操作过程仅15-20分钟。相比于传统的Trizol抽提法, 本试剂盒的操作流程显著简化, 缩短了抽提时间, 降低了RNA被降解的风险。和国外同类磁珠纯化产品相比, 所需操作步骤和操作时间基本一致。
- **本试剂盒抽提RNA的得率高。**本试剂盒的抽提效果经反复测试, 100万个HeLa细胞能抽提得到约15-20μg RNA, 20mg小鼠肝组织能抽提得到约25-35μg RNA, 20mg小鼠脑组织能抽提得到约10-20μg RNA(新鲜样品的得率高于冻存样品)。本试剂盒与RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)(R0026)方法及T公司同类产品的抽提效果对比参见图2。由图2可见, 本试剂盒在抽提细胞样品的RNA时, 抽提得到的RNA的量与碧云天的柱式试剂盒和T公司同类产品相当。

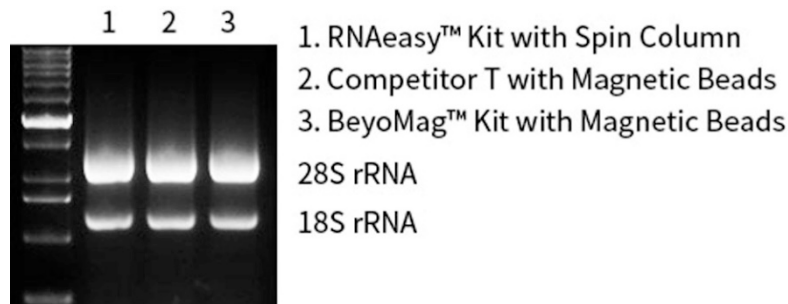


图2. BeyoMag™磁珠法动物RNA抽提盒(R0077)与RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式) (R0026)、T公司同类产品的RNA抽提效果对比。样品为新鲜培养的50万个HEK 293T细胞。洗脱液用量均为50μl。均取8μl洗脱的样品经混合2μl BeyoRed

DNA上样缓冲液(6X) (D0072)，在1.2%琼脂糖凝胶中电泳约30分钟后拍照。实际抽提效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，本图仅供参考。

- 本试剂盒适用于新鲜或冻存的动物组织或细胞RNA的抽提，推荐的细胞用量为50-100万(上限可达500万)，组织用量为15-20mg (上限可达30mg)。不同的组织或细胞用量上限会有所差别，例如小鼠肝脏组织上限可达30mg，但肌肉组织上限约为20mg。

#### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
R0077S-1	BeyoMag™ RNA磁珠	0.2ml
R0077S-2	裂解液	6ml
R0077S-3	结合液	4.8ml(第一次使用前加1.2ml无水乙醇)
R0077S-4	洗涤液I	6.5ml
R0077S-5	洗涤液II	13ml
R0077S-6	洗脱液	1ml
R0077S-7	DNase	20μl
R0077S-8	Reaction Buffer (10X)	100μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0077M-1	BeyoMag™ RNA磁珠	1ml
R0077M-2	裂解液	30ml
R0077M-3	结合液	24ml(第一次使用前加6ml无水乙醇)
R0077M-4	洗涤液I	32ml
R0077M-5	洗涤液II	63ml
R0077M-6	洗脱液	5ml
R0077M-7	DNase	100μl
R0077M-8	Reaction Buffer (10X)	500μl
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
R0077L-1	BeyoMag™ RNA磁珠	4ml
R0077L-2	裂解液	120ml
R0077L-3	结合液	100ml(第一次使用前加24ml无水乙醇)
R0077L-4	洗涤液I	125ml
R0077L-5	洗涤液II	125ml×2
R0077L-6	洗脱液	20ml
R0077L-7	DNase	400μl
R0077L-8	Reaction Buffer (10X)	2ml
—	说明书	1份

#### 保存条件：

除DNase和Reaction Buffer (10X)以外，室温保存，一年有效。DNase和Reaction Buffer (10X) -20℃保存，一年有效。其中BeyoMag™ RNA磁珠长期不使用时，可以4℃保存，4℃可以保存更长时间。

#### 注意事项：

- 需自备磁分离装置，推荐使用碧云天的1.5/2ml磁分离架(FMS004、FMS008、FMS012、FMS016、FMS024)。
- 对于富含RNase的样品(如动物组织)，建议使用前在裂解液中添加二硫苏糖醇(Dithiothreitol, DTT)至终浓度为40mM (例如1ml裂解液中加入20μl 2M DTT)或β-巯基乙醇至终浓度为1% (如1ml裂解液中加入10μl β-巯基乙醇)。含DTT或β-巯基乙醇的裂解液可在室温放置1个月。
- 如果不使用试剂盒提供的DNase I进行处理，本试剂盒抽提得到的RNA会含有少量的DNA。后续如进行某些对DNA残留较敏感的实验时，需要在使用说明中步骤4后，在磁珠中加入适量DNase I进行消化，具体请参考使用说明。
- 建议使用推荐的细胞数或组织量用于RNA的抽提，否则可能导致BeyoMag™ RNA磁珠聚集而使基因组DNA消化不充分。如果基因组DNA消化不充分，可以加大DNase I的用量或延长孵育时间。DNase I如果需要加大，可以考虑订购碧云天的RNase-free的DNase I (D7073/D7076)。
- 本试剂盒提供的所有试剂都是RNase-free，操作时应小心，避免被RNase污染。所有自行准备的试剂和耗材也都应是

RNase-free。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。操作时应避免对着样品或所使用的试剂盒耗材呼气或说话，以防RNase污染。建议戴一次性口罩操作。

- 对于操作环境中RNA酶的去，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。
- 使用冻存的细胞或组织抽提RNA的效果通常比新鲜的细胞或组织略差一些。因为在细胞或组织冻融过程中一些细胞或组织内的RNase会被释放出来并导致样品中的RNA少量或部分降解。对于组织样品，推荐使用碧云天生产的RNALater™动物组织RNA稳定保存液(R0118)进行保存以保证样品RNA的完整性。
- 本试剂盒所有操作均在室温进行，操作时无需冰浴。
- 结合液、洗涤液中含有一定浓度的乙醇，使用后须旋紧瓶盖以防挥发，并须按照易燃试剂的相关规范进行存放和使用。
- 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. 样品的准备。

**细胞样品：**收集50-100万左右细胞。对于悬浮细胞，1000-2000×g离心1分钟后弃上清，加入**300μl裂解液**，轻轻吹打8-10次至固悬物溶解、溶液澄清；对于贴壁细胞，吸净培养液后加入**300μl裂解液**，轻轻吹打5-10次至固悬物溶解、溶液澄清，转移至一洁净离心管内。

**组织样品：**取15-20mg动物组织，置于液氮中研磨成粉末，立即加入**600μl裂解液**。也可将组织置于1.5ml离心管中，迅速加入600μl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。研磨或匀浆后，轻轻吹打匀浆液8-10次，室温放置3-5分钟。然后约14,000×g离心2分钟，将上清液移至新的离心管中。对于比较容易裂解且匀浆很充分的组织(如肝组织、脑组织等)可以不用高速离心而直接进入步骤2。

**注意：**细胞的数量一般不超过200万，最多不超过500万，不超过100万细胞宜使用300μl裂解液，多于100万细胞宜使用600μl裂解液。动物组织的用量一般不超过30mg，用量过多可能会因裂解不充分导致得率下降。组织样品在裂解和离心后，离心管下部可能会有一些胶状物质，宜作为上清转移至下一步操作。如果弃除胶状物，会导致得率下降约30-50%。后续加入结合液后胶状物会消失。离心是为了去除未匀浆充分的明显块状物。如果裂解后仍有粘稠物，需增加吹打次数至溶液完全澄清。对于富含RNase的样品，裂解液中宜添加DTT至终浓度为40mM或添加β-巯基乙醇至终浓度为1%。

### 2. 加入等体积结合液至裂解液中，轻轻颠倒混匀3-5次。此时可能会有沉淀物产生，属于正常现象。

### 3. 将混合物(包括沉淀物)转移至新的1.5ml离心管内，加入20μl BeyoMag™ RNA磁珠悬液(使用前务必混匀)，轻柔混匀后，室温放置3-5分钟。将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸除残液。

**注意：**磁珠在使用前一定要涡旋或震荡混匀。如有必要，可适当增加磁珠用量，延长结合时间以提高得率。

### 4. 加入600μl洗涤液I，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒2次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，尽量吸净残液。

### 5. 选做：如果略去本步骤，通过本试剂盒抽提得到的RNA会含有少量基因组DNA。后续如进行某些对基因组DNA残留较敏感的实验时，可在上一步骤洗涤后，在磁珠中加入80μl含2 μl DNase的酶溶液(每80μl酶溶液按照71.8μl水加8μl Reaction Buffer (10X)再加2μl DNase混合配制而成)，37℃放置消化15-30分钟。消化结束后，不需要进行任何额外的操作，直接进入步骤6。

### 6. 加入600μl洗涤液II，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒2次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，尽量吸净残液。

### 7. 重复步骤6一次。

### 8. 将离心管室温放置5-10分钟，或置于37℃鼓风机烘箱5分钟，确保残留的乙醇等微量液体完全挥发。

### 9. 加入50-100μl洗脱液，轻柔震荡使磁珠悬于溶液中，室温孵育3-5分钟，其间甩动离心管1-2次。将离心管置于磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸取溶液至新离心管中，置于-20℃保存。所得溶液即为纯化的RNA。

**注意：**如需获得更高浓度的样品，可把洗脱液的体积减小至20μl，但洗脱下来的RNA量会相对减少。室温较低时，洗脱液在37℃预热片刻对得率有所帮助。此外，洗脱后的溶液再次加回到原磁珠再洗脱一次，可提高得率约10-30%；或者在第一次洗脱后使用新的洗脱液再洗脱一次，会获得约为第一次洗脱量15-40%的RNA。

## 参考文献：

1. St Laurent G, Wahlestedt C, Kapranov P. Trends Genet. 2015. 31(5):239-51.
2. Chen X, Rechavi O. Nat Rev Mol Cell Biol. 2022. 23(3):185-203.

## 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
R0011	Beyozol (总RNA抽提试剂)	100ml
R0016	Trizol (总RNA抽提试剂)	100ml
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
R0024	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	12次
R0026	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
R0027	RNAeasy™动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	200次
R0028	RNAeasy™动物小RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次

R0032	RNAeasy™ Plus动物RNA抽提试剂盒(离心柱式)	50次
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
R0118	RNA Later™动物组织RNA稳定保存液	100ml
R0121	AllProtect™动物组织核酸、蛋白稳定保存液	25ml
R0122	AllProtect™动物组织核酸、蛋白稳定保存液	100ml
R0123	RNase and DNase Away	250ml
R0125	RNase, DNase and DNA Away	250ml
R0127	RNase, DNase, RNA and DNA Away	250ml
ST036	DEPC	10g
D7073	DNase I	200U
D7076	DNase I	1000U

Version 2022.10.26