

BeyoMag™磁珠法血液mRNA抽提试剂盒

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|--------|------------------------|------|
| R0095S | BeyoMag™磁珠法血液mRNA抽提试剂盒 | 50次 |
| R0095M | BeyoMag™磁珠法血液mRNA抽提试剂盒 | 200次 |
| R0095L | BeyoMag™磁珠法血液mRNA抽提试剂盒 | 800次 |

产品简介:

- 碧云天的BeyoMag™磁珠法血液mRNA抽提试剂盒(BeyoMag™ Animal mRNA Isolation 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、便捷地从新鲜、冻存、经EDTA、肝素等抗凝处理或经过RNALater™血液RNA稳定保存液(R0116)保存的血液中快速分离纯化出高纯度完整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]。
- 一个典型的哺乳血液细胞中,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,当血液的裂解液与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]。

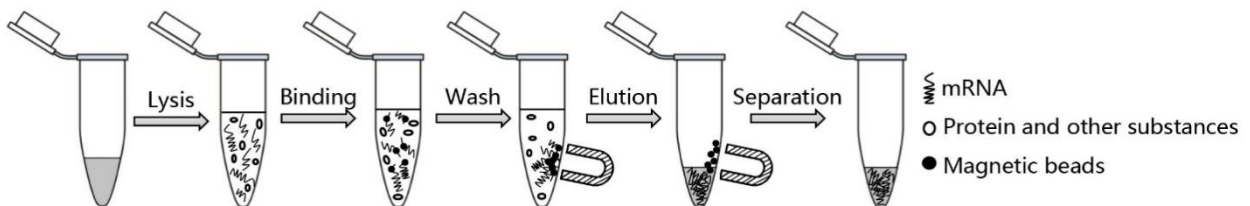


图1. BeyoMag™磁珠法血液mRNA抽提试剂盒(R0095)的工作原理示意图。

- 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100μl新鲜小鼠血液抽提约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。本试剂盒及国内同类产品Competitor C抽提小鼠新鲜血液的mRNA的检测效果比较参见图2。

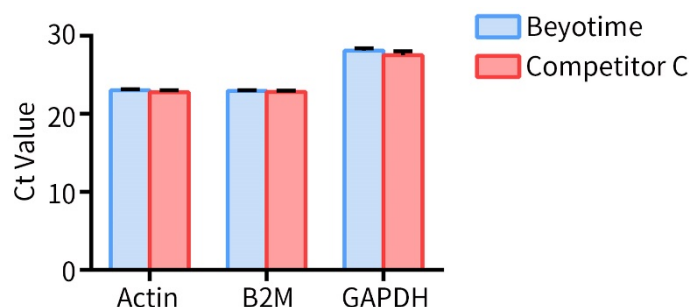


图2. BeyoMag™磁珠法血液mRNA抽提试剂盒(R0095)用于从新鲜小鼠血液中抽提mRNA的效果图。使用本试剂盒及国内同类产品Competitor C抽提小鼠新鲜血液的mRNA,然后使用BeyoRT™ III cDNA合成预混液(5X) (with gDNA EZeracer) (D7185)进行cDNA合成,随后使用BeyoFast™ SYBR Green qPCR Mix (2X, Low ROX)(D7262)和Actin、B2M和GAPDH三种内参引物进行qPCR检测,图中可见使用本试剂盒与同类产品抽提的mRNA,qPCR检测的Ct值基本一致。实际结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异,图中数据仅供参考。

- 本试剂盒中的BeyoMag™ Oligo (dT)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 |
|----------|--------------------------------------|------|
| R0095S-1 | BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ 磁珠 | 1ml |
| R0095S-2 | 溶液I (结合液) | 30ml |
| R0095S-3 | 溶液II (裂解液) | 30ml |
| R0095S-4 | 溶液III(洗涤液I) | 30ml |
| R0095S-5 | 溶液IV(洗涤液II) | 60ml |
| R0095S-6 | 溶液V (洗脱液) | 5ml |
| — | 说明书 | 1份 |

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|--------------------------------------|-------|
| R0095M-1 | BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ 磁珠 | 4ml |
| R0095M-2 | 溶液I (结合液) | 120ml |
| R0095M-3 | 溶液II (裂解液) | 120ml |
| R0095M-4 | 溶液III(洗涤液I) | 120ml |
| R0095M-5 | 溶液IV(洗涤液II) | 240ml |
| R0095M-6 | 溶液V (洗脱液) | 20ml |
| — | 说明书 | 1份 |

| 产品编号 | 产品名称 | 包装 |
|----------|--------------------------------------|---------|
| R0095L-1 | BeyoMag™ Oligo (dT) ₂₅ 磁珠 | 16ml |
| R0095L-2 | 溶液I (结合液) | 480ml |
| R0095L-3 | 溶液II (裂解液) | 480ml |
| R0095L-4 | 溶液III(洗涤液I) | 480ml |
| R0095L-5 | 溶液IV(洗涤液II) | 480ml×2 |
| R0095L-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)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:

- 血液样品推荐使用碧云天生产的RNALater™血液RNA稳定保存液(R0116)进行保存以保持RNA的完整性。
- 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。
- 请使用推荐的血液量, 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。

- 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。
- 血液的准备。
 - 收集50-100μl新鲜的红细胞无细胞核的血液样品, 或5-10μl红细胞有细胞核的血液, 加入含抗凝剂的抗凝管中, 颠倒混

匀。

注1: 人、猴、牛、兔、大鼠、小鼠等的红细胞无细胞核, 鸟、鱼、蛙等的红细胞有细胞核。红细胞有细胞核会导致相同体积的血液内RNA的含量非常高。抗凝剂推荐使用EDTA钠盐或钾盐, 肝素和柠檬酸盐也可以。

注2: 白细胞的收集和保存在RNALater™血液RNA稳定保存液(R0116)中的血液样品, 请参考RNALater™血液RNA稳定保存液的使用说明步骤1、2对血液样品进行处理。对于白细胞, 由于不含红细胞, 对于‘红细胞有细胞核的血液’的血液体积可参考‘红细胞无细胞核的血液样品’。

(b) 按照血液量加入下表中推荐的溶液II(裂解液/Lysis Buffer)。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. 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, 根据总细胞量或组织重量和样品数量, 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)。

| Blood Volume | Lysis Buffer | Beads | Wash Solution I | Wash Solution II |
|--------------|--------------|-------|-----------------|------------------|
| <50µl | 100µl | 20µl | 500µl | 500µl each time |
| 50~100µl | 300µl | 40µl | 500µl | 500µl each time |
| 100~300µl | 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. 从血液中抽提mRNA。

a. 取上述制备好的血液样品与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/Wash Solution I)洗涤磁珠, 磁分离30秒, 去上清。

注意: 该步骤可能会出现絮凝物, 增加洗涤次数, 可使磁珠分散均匀, 絮凝减少, 絮凝不影响mRNA的抽提。

d. 室温下用500µl溶液IV(洗涤液II/Wash Solution 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 |
|--------|--------------------------|-------|
| 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 |
| R0035 | BeyoMag™磁珠法动物总RNA抽提试剂盒 | 50次 |
| R0091S | RNAeasy™血液RNA抽提试剂盒(离心柱式) | 12次 |

| | | |
|--------|--------------------------------|-------------|
| R0091M | RNAeasy™血液RNA抽提试剂盒(离心柱式) | 50次 |
| R0091L | RNAeasy™血液RNA抽提试剂盒(离心柱式) | 200次 |
| R0093S | BeyoMag™磁珠法血液RNA抽提试剂盒 | 10次 |
| R0093M | BeyoMag™磁珠法血液RNA抽提试剂盒 | 50次 |
| R0093L | BeyoMag™磁珠法血液RNA抽提试剂盒 | 200次 |
| R0095S | BeyoMag™磁珠法血液mRNA抽提试剂盒 | 50次 |
| R0095M | BeyoMag™磁珠法血液mRNA抽提试剂盒 | 200次 |
| R0095L | BeyoMag™磁珠法血液mRNA抽提试剂盒 | 1000次 |
| R0116 | RNALater™血液RNA稳定保存液 | 100ml/500ml |
| R0123 | RNase and DNase Away | 250ml |
| R0125 | RNase, DNase and DNA Away | 250ml |
| R0127 | RNase, DNase, RNA and DNA Away | 250ml |
| ST036 | DEPC | 10g |

Version 2024.10.05