

mRNA 纯化试剂盒 (磁珠法)

HX3026

产品简介

mRNA 纯化试剂盒 (磁珠法) 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。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。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, ~20 pg (1%); DNA, ~7 pg (0.3%); protein, ~500 pg (20%); polysaccharide (多糖), ~2 μg (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%。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 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。具有提取效果稳定、纯度高、速度快、操作便捷等优点, 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 min 即可完成。所有操作都在同一个离心管中完成, 操作便捷。Oligo (dT)₂₅ 磁珠粒径约为 200 nm, 浓度约为 5 mg/ml。每毫克磁珠偶联的 Oligo (dT)₂₅ 约为 300-400 pmol, 每毫克磁珠可纯化约 2-3 μg mRNA。

产品应用

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血液 RNA 稳定保存液保存的血液中快速分离纯化出高纯度完整 mRNA 的试剂盒。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。

储存条件

4°C 保存, 一年有效。其中 Buffer Beads 长期不使用时, -20°C 保存, 可以保存更长时间。

产品信息

组分编号	组分名称	规格	规格	规格
		50 T	200 T	800 T
HX3026-1	Buffer Beads (Oligo (dT) ₂₅ 磁珠悬浮液)	1 ml	4 ml	16 ml
HX3026-2	Buffer P1 (结合液)	30 ml	120 ml	480 ml
HX3026-3	Buffer WB (洗涤液)	25 ml	100 ml	400 ml
HX3026-4	Buffer EB (洗脱液)	2 ml	8 ml	32 ml

注意事项

- 操作过程要严格保证无 RNA 酶和 DNA 酶污染。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。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

- 准备工作：**
 - Buffer P1 和 Buffer WB 使用前平衡至室温。Buffer EB 在使用前置于冰上或者 2-8°C 保存。如果 Buffer P1 或 Buffer WB 有沉淀，适当水浴或者振荡溶解。
 - Buffer Beads 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 Buffer Beads 至一洁净离心管中。

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

(b) 无论磁珠用量多少，按照每个样品 200 μl Buffer P1 的量，加入适量 Buffer P1 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 sec，去除上清。重复本步骤 1 次。

注：如果样品数量超过 5 个，可以考虑将适量 Buffer Beads 先直接置于磁力架上分离 30 sec，去除上清，然后根据样品数量再加入适量 Buffer P1 洗涤两次。

(c) 按照每个样品 100 μl Buffer P1 的量，加入适量 Buffer P1 重悬磁珠。

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

a. 取 100 μl 含有 20 μg Total RNA 的样品与 100 μl Buffer P1 混合。

注：如果 20 μg Total RNA 不足 100 μl ，可以用 DEPC 水或其它适当 Nuclease-free 溶液补足至 100 μl 。

b. 65 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 min 以打开 RNA 的二级结构，孵育结束后迅速置于冰上。

c. 将该 200 μl 混合液与 100 μl 洗涤后的磁珠在室温下旋转混合 5 min。

d. 置于磁力架上分离 1 min，去除上清。

e. 室温下用 200 μl Buffer WB 洗涤磁珠，磁分离 30 sec，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：从磁珠上洗脱 mRNA：加入 10-20 μl Buffer EB 或 Nuclease-free 的水，75-80 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 2 min，磁分离 30 sec，然后将上清转移到新的 Nuclease-free 的离心管中，置于冰上待用。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。

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 $^{\circ}\text{C}$ 保存。