



mRNA 磁珠捕获试剂盒

使用说明书

货 号:

NGS24009-S(24 rxns)

NGS24009-L(96 rxns)



一、试剂盒简介

mRNA 磁珠捕获试剂盒包含偶联 Oligo(dT)的顺磁性微球，可与带 polyA 尾的 mRNA 结合，从纯化后的总 RNA 中有效分离 mRNA，整个实验操作可在 1 h 内完成。本产品适用于人、动物、植物、真菌等真核生物 2.5 ng - 1 µg 总 RNA 中 mRNA 的分离。试剂盒提供的所有试剂都经过了严格的质量控制和功能验证，最大程度上保证了文库构建的稳定性和重复性。

二、试剂盒规格及组分

组分名称	NGS24009-S (24 rxns)	NGS24009-L (96 rxns)	保存温度
mRNA 捕获磁珠	1.2 mL	4.8 mL	2 ~ 8 °C
mRNA 磁珠结合缓冲液	1.2 mL	4.8 mL	2 ~ 8 °C
mRNA 磁珠洗涤缓冲液	9.6 mL	38.4 mL	2 ~ 8 °C
mRNA 磁珠洗脱缓冲液	1.2 mL	4.8 mL	2 ~ 8 °C

三、保存与运输条件

2 ~ 8°C 保存，冰袋运输。

四、自备材料

磁力架、无核酸酶 200 µL PCR 单管或者八联排管、1.5 mL 离心管、无核酸酶水(Nuclease-free Water)等。

五、注意事项

5.1 试剂应保存于 4°C 条件，使用前请平衡至室温使用。

5.2 所有缓冲液试剂在使用前都应上下颠倒充分混匀，但不可剧烈振荡以防起泡。

5.3 应使用 Qubit® 荧光仪或相关仪器对 RNA 进行准确定量，使用安捷伦 2100 生物分析仪对 RNA 完整性进行检测。确保总 RNA RIN 值 > 7，mRNA 完整度较低或降解会影响后续实验结果。确保 RNA 样品中无 DNA、盐离子(例如 Mg^{2+} 、胍盐)、螯合剂(例如 EDTA、EGTA)和有机物(例如苯酚或乙醇)残留，否则可能导致非预期内的 RNA 降解或 RNA 捕获效率低。

5.4 实验过程中务必佩戴口罩、手套进行操作，并使用新鲜的无核酸酶水(Nuclease-free Water)，避免污染。

5.5 本试剂盒仅供科研使用，使用前请详细阅读说明书并必须严格按照说明书进行操作。

5.6 避免样品交叉污染，推荐使用带滤芯的枪头，吸取不同样品时请更换枪头。

5.7 反应液配置时应尽量避免产生气泡，并注意防止漏液。

5.8 不要使用超过有效期的试剂，不同批次的产品不能混用。

5.9 加样所用的移液器需要定期检测，保证加样的准确性。

六、操作步骤

6.1 样本准备

将 RNA 取出置于冰上溶解，用无核酸酶水(Nuclease-free Water)将 2.5 ng-1 μg 总 RNA 稀释至 50 μL ，置于无核酸酶 PCR 管中，冰上放置备用。

6.2 mRNA 捕获及纯化

6.2.1 将试剂从 2-8 $^{\circ}\text{C}$ 取出，室温下平衡约 30 min，将 mRNA 捕获磁珠颠倒混匀或者使用移液器吸吹至磁珠充分悬浮。

6.2.2 配置表 1 中的体系：

表 1 mRNA 捕获体系

试剂	体积
mRNA 捕获磁珠	50 μL
Total RNA	50 μL
Total	100 μL

6.2.3 将样品吹打混匀，放入 PCR 仪（热盖 75 $^{\circ}\text{C}$ ），按照表 2 进行反应，使 mRNA 与捕获磁珠结合：

表 2 mRNA 与捕获磁珠结合程序

温度	时间
65 $^{\circ}\text{C}$	5 min
25 $^{\circ}\text{C}$	5 min
25 $^{\circ}\text{C}$	∞

6.2.4 从 PCR 仪中取出样品置于磁力架上 2 min，待溶液澄清后吸弃上清，不要触动磁珠。

6.2.5 向 PCR 管中轻轻加入 200 μL mRNA 磁珠洗涤缓冲液，使用移液器反复吹打 10 次以上重新混匀磁珠，置于磁力架上 2 min，待溶液澄清后吸弃上清，不要触动磁珠。

6.2.6 从磁力架上取下样品，加入 50 μL mRNA 磁珠洗脱缓冲液，使用移液器反复吹打 10 次以上重新混匀磁珠，置于 PCR 仪上，运行表 3 程序（热盖 105 $^{\circ}\text{C}$ ）：

表 3 mRNA 与捕获磁珠结合程序

温度	时间
80 $^{\circ}\text{C}$	2 min
25 $^{\circ}\text{C}$	∞

6.2.7 从 PCR 仪中取出样品，加入 50 μL mRNA 磁珠结合缓冲液，使用移液器反复吹打 10 次以上重新混匀磁珠，室温放置 5 min。

6.2.8 将 PCR 管置于磁力架上 2 min，待溶液澄清后，轻柔吸弃上清（注意不要触动磁珠）。

6.2.9 向 PCR 管中轻轻加入 200 μL mRNA 磁珠洗涤缓冲液，使用移液器反复吹打 10 次以上重新混匀磁珠，置于磁力架上 2 min，待溶液澄清后吸弃上清，不要触动磁珠。

6.3 mRNA 样本终洗脱

根据后续实验流程选择处理方式：

a. 若产物用于 RNA 文库构建，推荐按照(环球基因试剂盒，货号 NGS24011)说明书加入 18 μL 片段化缓冲液立即进行文库构建。

b. 若产物用于逆转录反应，从磁力架上取下样品，加入 10 μL 无核酸酶水(Nuclease-free Water)，使用移液器轻轻吹打充分混匀。将样品置于 PCR 仪中 80 $^{\circ}\text{C}$ 2 min 后，立即置于磁力架上静置 3 min，待溶液澄清后，小心吸取 8 μL 上清至新的 Nuclease-free PCR 管中。

注：纯化产物可置于冰上继续进行相应分析应用（建议立即进行后续反应），也可置于-80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

七、免责声明

试剂盒仅供研究使用，不得用于临床实验或人体实验，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。严格按照说明书操作，实验者违反说明书操作，后果由实验者承担。