

Hieff NGS[®] mRNA Isolation Master Kit

Cat #12603

使用说明书
Product Manual



目 录

产品信息	1
产品描述	1
产品组分	1
运输与保存方法	1
注意事项	1
使用方法	1

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Hieff NGS [®] mRNA Isolation Master Kit	12603ES24	24 T
mRNA 纯化试剂盒	12603ES96	96 T

产品描述

Hieff NGS[®] mRNA Isolation Master Kit 是翌圣生物自主研发的专门用于纯化 mRNA 的磁珠试剂盒。其中的 mRNA Capture beads 为偶联了 Oligo (dT) 的微米级顺磁性微球，通过与带有 poly (A) 尾巴的 mRNA 相结合，将 mRNA 从 10 ng-4 μg 完整度良好的总 RNA 中进行分离纯化。

产品组分

产品组分	组分名称	12603ES24	12603ES96
12603-A	mRNA Capture Beads	1.2 mL	4.8 mL
12603-B	Beads Binding Buffer	1.2 mL	4.8 mL
12603-C	Beads Wash Buffer	15 mL	60 mL
12603-D	Tris Buffer	1.2 mL	4.8 mL
12603-E	Nuclease-free water	1 mL	4 mL

运输与保存方法

冰袋运输。

2-8°C 保存，有效期一年。**避免冷冻!**

注意事项

1. 磁珠使用前务必要回温至室温，并充分混匀，否则可能影响样品的回收效率。
2. 操作过程要严格保证无 RNase 和核酸污染。
3. 本产品和其他试剂配套使用时，请按照具体实验说明来进行操作。
4. 想要获得好的纯化效果，需要有完整度良好的总 RNA，确保 RIN 值在 7.0 及以上。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
6. 本产品仅用作科研用途!

使用方法

一、自备材料

磁力架，Nuclease-free 离心管。

二、操作流程

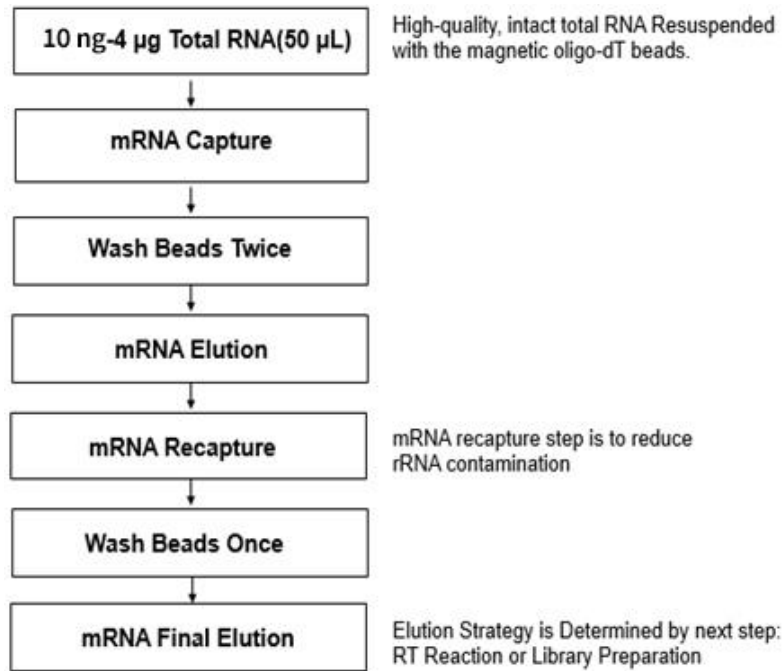


图 1 mRNA 纯化试剂盒操作流程

三、操作步骤

3.1 实验前准备

将 mRNA Capture Beads 从 2-8°C 取出，静置使其温度平衡至室温（约 30 min）。

3.2 样本准备

在一个 Nuclease-free PCR 管中，用 Nuclease-free water 将 10 ng-4 µg 总 RNA 稀释至 50 µL，冰上放置备用。

3.3 mRNA 与磁珠的结合

- ① 颠倒或涡旋振荡混匀磁珠，吸取 50 µL 磁珠悬液加入至 50 µL 总 RNA 样品中，用移液器反复吹打 6 次，使其充分混匀。
- ② 将磁珠与 RNA 的混合物置于 PCR 仪中，65°C，5 min；25°C，5 min；25°C，hold，完成 RNA 与捕获磁珠的结合。
- ③ 将样品置于磁力架中，室温静置 5 min，使 mRNA 与总 RNA 分离，小心移除上清。

3.4 样本的洗涤

- ① 将样品从磁力架上取出，加入 200 µL Beads Wash Buffer 重悬磁珠，用移液器反复吹打 6 次以彻底混匀。
- ② 将样品置于磁力架中，室温静置 5 min，小心移除上清。
- ③ 重复上一步骤，共洗涤两次。

3.5 mRNA 样本第一轮洗脱

- ① 将样品从磁力架上取出，加入 50 µL Tris Buffer 重悬磁珠，用移液器反复吹打 6 次以彻底混匀。
- ② 将样品放置于 PCR 仪中，80°C，2 min；25°C，hold，将 mRNA 洗脱下来。

3.6 mRNA 与磁珠的再次结合

- ① 将样品从 PCR 仪中取出，加入 50 µL Beads Binding Buffer，用移液器反复吹打 6 次以彻底混匀。
- ② 室温孵育 5 min，使 mRNA 结合到磁珠上。
- ③ 将样品置于磁力架中，室温静置 5 min，小心移除上清。

3.7 样本的洗涤

将样品从磁力架上取出，加入 200 µL Beads Wash Buffer 重悬磁珠，用移液器反复吹打 6 次彻底混匀，将样品重新放回至磁力架中，室温静置 5 min，然后吸除全部上清。

【注】：最后需要用 10 µL 移液器吸干净残留液体。

3.8 mRNA 样本终洗脱

方案一：用于逆转录反应。

将样品从磁力架上取出，加入 12 μL Nuclease-free water 重悬磁珠，用移液器吹打 6 次以彻底混匀。将样品置于 PCR 仪中 80°C，2 min 后，立即置于磁力架上，室温静置 5 min。待溶液澄清后，小心吸取 10 μL 上清至另一新的 Nuclease-free PCR 管中。

方案二：用于 RNA 文库的构建。

可根据相关试剂盒说明书加入相应体积的 Frag/Primer Buffer，进行文库构建。

【注】：样品可置于冰上继续进行 NGS 文库构建或其他分析应用（建议立即进行后续反应），也可以置于 -80°C 保存。

Good science

Good products

翌圣生物科技（上海）股份有限公司

服务电话:400-6111-883

咨询邮箱:marketing@yeasen.com

网 址:www.yeasen.com

地 址:上海市浦东新区国际医学园区天雄路166号1号楼402室

