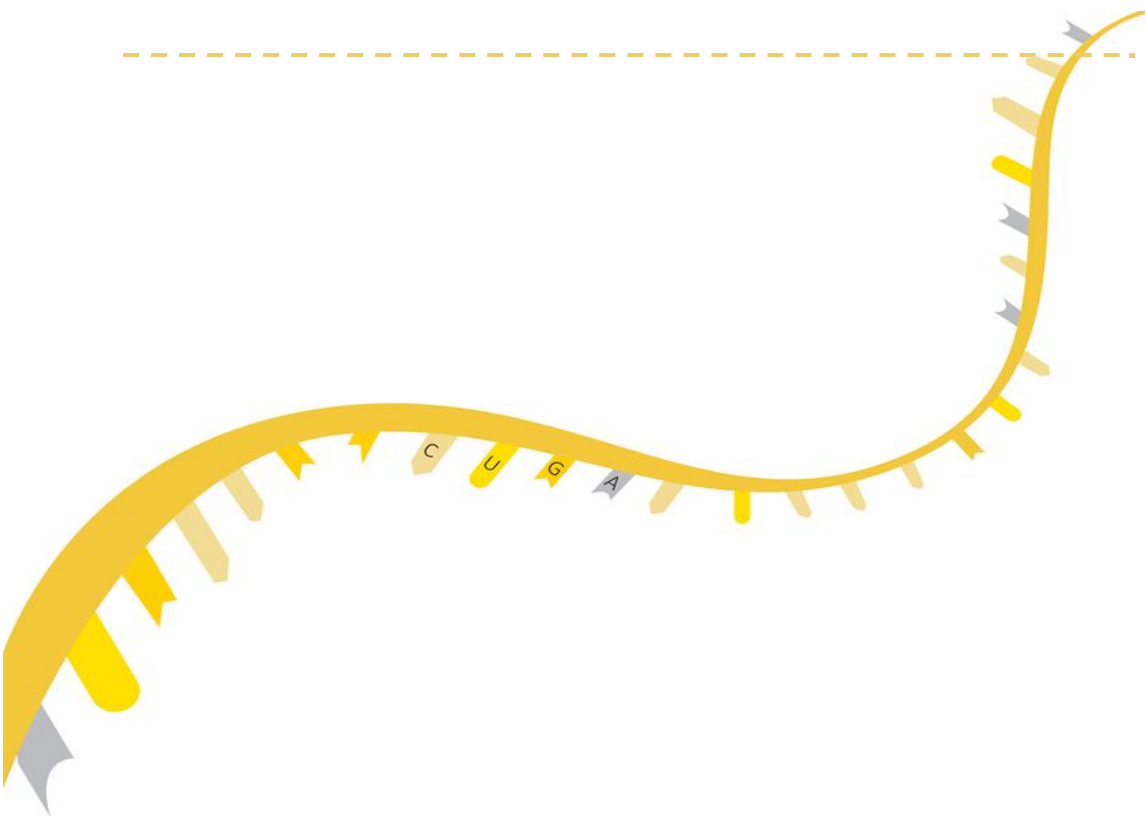


Poly(A) mRNA Purification Module

RK20341



目录

1. 产品概述.....	1
2. 试剂盒组成.....	1
3. 保存条件.....	1
4. 自备材料.....	1
5. 注意事项.....	1
6. 实验过程.....	2
7. 常见问题及解答.....	4

1. 产品概述

Oligo d(T)₂₅ Capture Magnetic Beads 是偶联 Oligo d(T) 的磁性微球，是从 total RNA 中利用 polyA 尾巴与 Oligo d(T) 结合获取 mRNA；

试剂盒中的每种试剂都经过了严格的质量控制，且每一批次的建库 Kit 都经过了建库和上机测序的验证，保证每一批次的试剂盒性能质量稳定。

2. 试剂盒组成

表 1：试剂盒组合表

试剂管名称与颜色		8 RXN	24 RXN	96 RXN
●	Oligo d(T) ₂₅ Capture Magnetic Beads	160 μL	480 μL	1.92 mL
●	mRNA Binding Buffer	4 mL	12 mL	48 mL
●	Washing Buffer	6.2 mL	19.2 mL	76.8 mL
●	Tris Buffer	0.4 mL	1.2 mL	4.8 mL

- 代表了管盖子的颜色。

3. 保存条件

冰袋运输，2-8℃保存，避免冷冻！

4. 自备材料

Nuclease-free PCR 管、磁力架、PCR 仪等。

5. 注意事项

5.1 Oligo d(T)₂₅ Capture Magnetic Beads 避免放入-20℃保存，-20℃低温会破坏 Oligo d(T)₂₅ Capture Magnetic Beads，不可继续使用，建议另

行购买 Poly (A) mRNA Purification Module (ABclonal, RK20341)。

5.2 磁珠从 2~8℃取出后应平衡至室温，否则影响磁珠的抓取效率。

5.3 每步骤加入试剂后应与磁珠充分混匀。

5.4 适用动植物，真菌等真核生物 RNA 样本，RNA 起始量在 10 ng-1 μg。

5.5 样本质量要求：Total RNA 要求 RIN 值>7，mRNA 完整度较低或者降解的样本会影响 RNA 建库后续实验结果，降解样本可以选择 rRNA Depletion Module 系列产品。

5.6 实验过程中应佩戴口罩，手套，使用新鲜的 Nuclease-free Water，避免污染。

6. 实验过程

6.1 将 Oligo d(T)₂₅ Capture 从 2-8℃取出，静置使其温度平衡至室温，充分涡旋混匀。

6.2 磁珠预处理：取 20 μL Oligo d(T)₂₅ Capture 于 1.5 mL 离心管中，加入 200 ul mRNA Binding Buffer，涡旋振荡混匀，微离心。将离心管置于磁力架上约 5 min，至溶液变澄清，弃上清。再加入 200 ul mRNA Binding Buffer，涡旋振荡混匀，微离心，磁力架上约 2 min，至溶液变澄清，弃上清。将样本从磁力架上取出，加入 50 μL mRNA Binding Buffer，振荡混匀备用。此为单个反应体系，如果是多个样本，按照比例放大。

6.3 将 RNA 取出冰上溶解，取 10 ng-1 μg total RNA 溶于 50 μL Nuclease-free 水中，冰上放置备用。

6.4 将预先处理好的 Oligo d(T)₂₅ Capture 磁珠涡旋混匀，取 50 μL 加入准备好的 RNA 溶液中，吹打混匀。

6.5 将混合物放入 PCR 仪中进行孵育（热盖温度 $\geq 75^{\circ}\text{C}$ ）：

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

6.6 孵育结束后，取出离心管置于磁力架上约 2 min，至溶液变澄清，弃上清。

6.7 将样品从磁力架上取出，加入 200 μL Washing Buffer 吹打混匀，置于磁力架上，至溶液变澄清，弃上清。

6.8 将样品从磁力架上取出，加入 50 μL Tris Buffer，吹打混匀后 PCR 仪上孵育（热盖温度 105 $^{\circ}\text{C}$ ）：

温度	时间
80 $^{\circ}\text{C}$	2 min

6.9 降至室温后，加入 50 μL mRNA Binding Buffer，吹打混匀，室温静置 5 min。

6.10 将离心管置于磁力架上约 2 min，至溶液澄清，弃掉上清。

6.11 将样品从磁力架上取出，加入 200 μL Washing Buffer 吹打混匀，置于磁力架上，至溶液变澄清，弃上清。

6.12 盖上管盖稍微离心后，置于磁力架上，用 10 μL 移液器将残留液体完全弃除。

6.13 根据实验目的的需要，选择不同的步骤：

A. 若用于 RNA 文库构建，参照 RNA 建库说明书（RK20306/RK20301/RK20302），加入 1X Frag/Elute Buffer，立即进行后续建库反应步骤。

B. 若 mRNA 洗脱产物直接用于逆转录或者完整度鉴定，加入 10 μL Nuclease-free Water，使用移液器吹打混匀，80 $^{\circ}\text{C}$ 2min，立即置于磁力架上放置 5min，待溶液澄清后，取 8 μL 上清至新的 PCR 管中，立即放置于冰上待用。

C. 若 mRNA 洗脱产物用于其他分析，可以暂于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

7. 常见问题及解答

表 2 mRNA 捕获过程中常见问题及纠正方式

步骤	正确步骤	错误步骤	纠正方式
步骤 6.8	加入 50 μ L Tris Buffer 重悬 beads	加入 50 μ L mRNA Binding Buffer	放入磁力架上，待澄清后，弃去上清，将样品从磁力架上取出，加入 Tris Buffer
步骤 6.9	加入 50 μ L mRNA Binding Buffer	加入 50 μ L Tris Buffer	同等体积放大加入 mRNA Binding Buffer
步骤 6.9	加入 50 μ L mRNA Binding Buffer，吹打混匀，室温静置 5 min	mRNA Binding Buffer 后，吹打混匀，立即放入磁力架上	重新吹打混匀，室温放置 5min
步骤 6.7 和步骤 6.11	加入 200 μ L Washing Buffer	加入 200 μ L mRNA Binding Buffer	放入磁力架上，待澄清后，弃去上清，将样品从磁力架上取出，重新加入 200 μ L Washing Buffer
步骤 6.12	10 μ L 移液器将残留液体弃除	忘记弃除	如果下一步为 mRNA 打断，会放大打断体系，影响 mRNA 打断大小

中国

www.abclonal.com.cn

中国总部：湖北省武汉市江夏区东湖高新区高科园 3 路精准医疗产业基地项目
一期 5 号楼

上海分子研发中心：上海市闵行区园美路 58 号紫竹新兴产业技术研究院 2 号
楼 4 楼

美国研发中心：86 Cummings Park Dr ,Woburn,MA 01801, United States

电话：400-999-6126

邮箱：cn.market@abclonal.com