



高灵敏度 mRNA纯化试剂盒

Catalog#JKR23010-10T

Sufficient reagents for mRNA purification assays per kit.

Store at 2-8°C

目录

1. 产品简介	02
2. 产品组分	02
3. 实验流程概要	02
4. 自备材料	03
5. 注意事项	03
6. 实验步骤	03



1. 产品简介

mRNA纯化试剂盒主要是从总RNA中快速分离出高纯度和完整的mRNA。其快速分离的原理为大多数mRNA 3'端的poly A残基能够与共价连接到磁珠表面的Oligo残基进行碱基配对,其他缺乏poly A尾巴的RNA不会与磁珠结合。

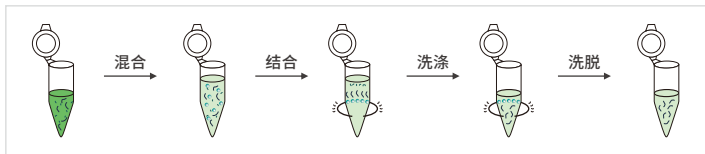
本试剂盒提供的Oligo高灵敏度捕获磁珠,效率高达每mg磁珠即能分离出~2μg的mRNA,经过简单的孵育、洗涤即可在短时间内从细胞裂解物或者总RNA中提纯只占总RNA 1~5%的mRNA,而提取的mRNA无需进行核糖体RNA消减或DNase处理即可直接用于后续实验,比如RT-qPCR、高通量测序、mRNA文库构建、固相cDNA文库构建、Northern blot分析、RACE、SAGE等分子生物学实验。

2. 产品组分

编号	组分名称	容量 (10T)	保存条件
1	Oligo磁珠	2 mL	4°C, 保质期18个月
2	结合液	5 mL	4°C
3	洗涤液	5 mL	4°C
4	洗脱液	500 μL	4°C

3. 实验流程概要

总RNA—结合—洗涤—洗脱—回收上清



4. 自备材料

RNase-free的离心管和移液器的tip头, PCR仪, 磁力架, 提取总RNA所需的所有材料。

5. 注意事项

- 1) 磁珠液pH 值为7~8, 禁止冻结。
- 2) 磁珠不能高速离心、干燥或冻存(可以瞬时离心), 禁止长时间置于磁场, 可能会引起磁珠聚团, 样品结合后操作过程应轻柔, 避免脱落。
- 3) 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。
- 4) 由于mRNA容易降解, 因此在实验过程中应减少RNA酶及DNA酶的污染, 酶的大量存在将会影响纯化效果。另外所纯化的mRNA若不马上用于后续实验则应置于 - 80℃ 保存。
- 5) 细胞样品在用注射器剪切时, 应避免产生气泡, 若有少量气泡可离心去除; 若气泡过多可用移液器吸取, 但是会有一定量的样品损失。剪切技巧: 少量多次剪切, 避免注射器吸到空气。
- 6) 洗脱液保存时可放常温, 在使用前需放4℃预冷。

6. 实验步骤

6.1 磁珠洗涤

- 1) 将Oligo磁珠在室温下充分混匀, 取200 μ L转移至EP管。
- 2) 将EP管放置在磁力架上, 静置1~2 min, 弃上清。
- 3) 取下EP管, 加入200 μ L结合液重悬磁珠, 再将EP管放置在磁力架上, 静置1~2 min, 弃上清。
- 4) 加入100 μ L结合液重悬备用。

6.2 样品制备

- 1) 按需使用柱法或者沉淀法获取总RNA。
- 2) 取总RNA 100 μ g, 加入DEPC水将体积补齐至100 μ L, 混合均匀。
- 3) 65 $^{\circ}$ C加热5 min, 迅速转移至冰上备用。

6.3 mRNA纯化

- 1) 将加热后的总RNA样品加入到清洗过后的磁珠中。混合均匀, 在室温下, 置于翻转架上孵育5 min。
- 2) 置于磁力架上静置1~2 min, 弃上清。
- 3) 加入200 μ L洗涤液, 充分吹打混匀, 置于磁力架上静置1~2 min, 弃上清, 该步骤重复1次;
- 4) 加入20 μ L预冷洗脱液, 80 $^{\circ}$ C孵育2 min, 快速转移至磁力架, 快速将含有mRNA的上清液转移至无RNA酶的EP管中。
- 5) 取2 μ L mRNA测吸光度及浓度。 $OD_{260}/OD_{280}=1.8\sim2.1$ 。

6.4 下游验证

根据实验需求可将所纯化的mRNA直接用于后续实验。



武汉金开瑞生物工程有限公司

WUHAN GENE CREATE BIOLOGICAL ENGINEERING CO., LTD.

地址：湖北省武汉市江夏区神墩五路北武汉生之源股份生物科创产业园

电话：027-87960366

邮箱：marketing@genecreate.com

网址：www.genecreate.cn

