

QKGEN[®] mRNA Capture Beads

本试剂盒用偶联了 Oligo(dT)的磁珠与带 Poly(A)尾的 mRNA 特异结合，从纯化后完整良好的 Total RNA (0.1-10 μ g, RIN 值 \geq 8)中纯化 mRNA。纯化得到的 mRNA 适用于 RT-PCR、qRT-PCR、二代测序等。本试剂盒适用于磁棒式高通量核酸提取仪。

产品组分

| 组分名称 | QMR0024 (24rxn) | QMR0096 (96rxn) |
|------------------|--------------------|--------------------|
| Binding Buffer | 1.3mL | 5mL |
| Clean Buffer | 1.3mL | 5mL |
| Wash Buffer | 10mL | 40mL |
| RNase-free Water | 1.3mL | 5mL |
| mRNA Beads | 1.3mL | 5mL |

保存方法：2-8 $^{\circ}$ C

注意事项：

1. 请使用 RNase-free 的 PCR 管。
2. 投入的 Total RNA 的完整度良好 (RIN 值 \geq 8)，否则会导致部分 mRNA 信息的缺失。
3. mRNA 若用于 NGS 文库构建，可选择在操作步骤 12 加入一定体积的片段化 Buffer 洗脱 mRNA。高温片段化后，立即置于磁力架上，待溶液澄清后，吸取一定体积的上清至 RNase-free 的 PCR 管中，立即用于 NGS 文库构建，或者置于 -80 $^{\circ}$ C 保存。

操作步骤：

1. 将 mRNA Beads 从 2-8°C 取出，平衡 30min 至室温，涡旋混匀。
2. 准备 RNA 样品：在 PCR 管中用 RNase-free Water 将总 RNA 稀释至 50 μ L。
3. 吸取 50 μ L mRNA Beads 至 RNA 样品中，用移液器吹吸混匀。
4. 将 PCR 管置于 PCR 仪上反应：

| Temperature | Time |
|-------------|------|
| 65°C | 5min |
| 25°C | 5min |
| 4°C | Hold |

注：反应前，确保磁珠充分混匀；反应时，PCR 管底可能有少量磁珠聚集，请振荡混匀。

5. 将 PCR 管置于磁力架 5 分钟，小心去掉上清。
6. 取下 PCR 管，加入 200 μ L Wash Buffer，移液器吹吸混匀，置于磁力架 5 分钟，小心去掉上清。
7. 取下 PCR 管，加入 50 μ L Clean Buffer，移液器吹吸混匀重悬磁珠。
8. 将 PCR 管置于 80°C 加热 2 分钟，降温至 25°C。
9. 加入 50 μ L Binding Buffer，移液器吹吸混匀，室温放置 5 分钟。
10. 将 PCR 管置于磁力架 5 分钟，小心去掉上清。
11. 取下 PCR 管，加入 200 μ L Wash Buffer，移液器吹吸混匀，置于磁力架 5 分钟，小心去掉上清。
12. 根据后续实验流程选择处理方式：
 - ◆ 若纯化操作使用自动化仪器进行或纯化产物用于逆转录反应，取下 PCR 管，加入 18 μ L RNase-free Water，用移液器吹吸混匀，于 80°C 加热 2 分钟后，立即置于磁力架上，待溶液澄清后，吸取 16 μ L 上清至 RNase-free 的 PCR 管中，将产物立即用于下游实验，或置于 -80°C 保存。
 - ◆ 若纯化产物用于 RNA 文库构建，如 QKGEN® ES RNA-seq Library Prep Kit (for Illumina)，按说明书加入 RNA Frag Buffer，进行文库构建。