

# Hieff NGS™ mRNA Isolation Master Kit

## mRNA 纯化试剂盒



Yeasen Biotech Co., Ltd.

使用说明书

## 产品信息

产品名称	产品编号	规格	储存
Hieff NGS™ mRNA Isolation Master Kit	12603ES24	24 T	2-8°C保存
Hieff NGS™ mRNA Isolation Master Kit	12603ES96	96 T	2-8°C保存

## 产品描述

Hieff NGS™ mRNA Isolation Master Kit 是翊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 0.1-4 μg 完整度良好的总 RNA 中进行分离纯化。

## 产品组分

组分名称	12603ES24	12603ES96
○ mRNA Capture Beads	1.2 mL	4.8 mL
○ Bead Binding Buffer	1.2 mL	4.8 mL
⊙ Beads Wash Buffer	15 mL	60 mL
○ Tris Buffer	1.2 mL	4.8 mL
○ Nuclease-free water	1 mL	4 mL

## 运输与保存方法

冰袋运输。2-8°C保存，效期一年。**避免冷冻!**

## 使用方法

### 一、自备材料

磁力架，Nuclease-free 离心管。

### 二、操作流程

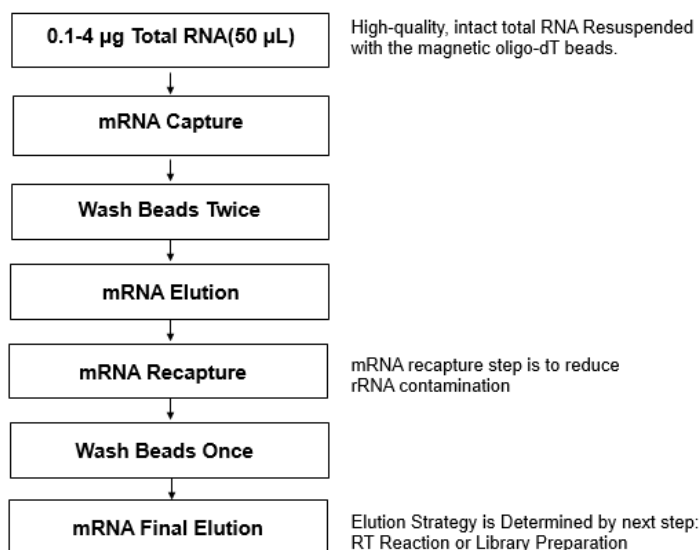


图 1 mRNA 纯化试剂盒操作流程

## 二、操作步骤

### 3.1 实验前准备

将 mRNA Capture Beads 从 4°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 0.1-4 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 的 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；4°C，hold，使得 RNA 变性。
- ③ 室温孵育 5 min，使 mRNA 与磁珠完全结合。
- ④ 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，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 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 Beads Wash Buffer，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。

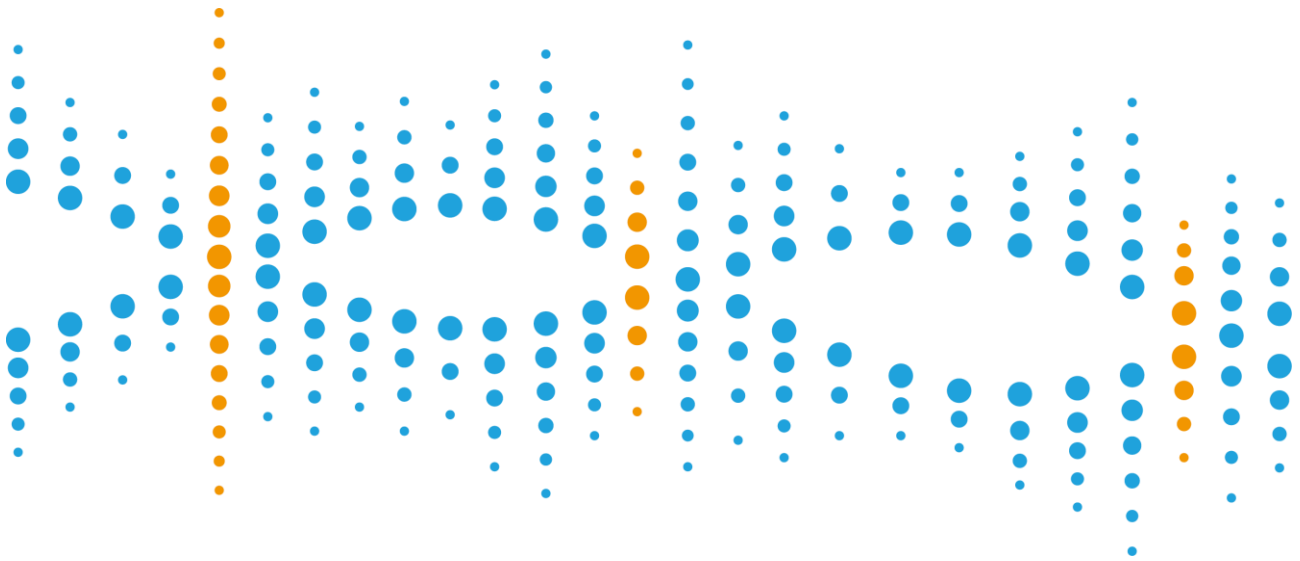
**【注】：**样品可置于冰上继续进行 NGS 文库构建或其他分析应用（建议立即进行后续反应），也可以置于 -80°C 保存。

## 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 酶和核酸污染。
- 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。

Good science

Good products



**Yeasen Biotech Co., Ltd.**

Service call : 400-6111-883

Email : [order@yeasen.com](mailto:order@yeasen.com)

Web : [www.yeasen.com](http://www.yeasen.com)

Add : Floor 3, Building 1, No.166 Tianxiong Road,  
International Medical Zone(SIMZ) ,Shanghai,China

