



# CWseq® mRNA Capture Kit

## mRNA捕获磁珠试剂盒

Cat. No. CW3087S (24 rxns)

CW3087M (96 rxns)

保存条件：2 ~ 8°C

### 产品内容

Component	CW3087S (24 rxns)	CW3087M (96 rxns)
mRNA Capture Beads	270 µL	1.2 mL
mRNA Binding Buffer	2.8 mL	12 mL
Elution Buffer	9 mL	37 mL
Beads Washing Buffer	6.5 mL	27 mL

### 产品简介

CWseq® mRNA Capture Kit包含偶联Oligod (T)的顺磁性微球, 可与带polyA尾的mRNA结合, 从纯化后的总RNA中有效分离mRNA, 整个实验操作可在1 h内完成。试剂盒中的每种试剂都经过了严格的质量控制, 保证性能质量稳定。

## 适用范围

本产品适用于人、动物、植物、真菌等真核生物2.5 ng - 1 μg总RNA中mRNA的分离。

## 自备材料

磁力架, 低吸附Nuclease-free PCR管, Nuclease-free ddH<sub>2</sub>O。

## 注意事项

1. 使用前需将试剂从2 ~ 8°C取出后平衡至室温 (~20 min), 否则影响捕获效率。
2. 所有缓冲液试剂在使用前都应上下颠倒充分混匀, 但不可剧烈振荡以防起泡。
3. 应使用Qubit®荧光仪或相关仪器对RNA进行准确定量, 使用安捷伦2100生物分析仪对RNA完整性进行检测。确保总RNA RIN值 >7, mRNA完整度较低或降解会影响后续实验结果。确保RNA样品中无DNA、盐离子 (例如Mg<sup>2+</sup>、胍盐)、螯合剂 (例如EDTA、EGTA) 和有机物 (例如苯酚或乙醇) 残留, 否则可能导致非预期内的RNA降解或RNA捕获效率低。
4. 实验过程中务必佩戴口罩、手套进行操作, 并使用新鲜的Nuclease-free ddH<sub>2</sub>O, 避免污染。

## 使用方法

### 1、样本准备

将RNA取出置于冰上溶解, 用无核酸酶水 (Nuclease-free ddH<sub>2</sub>O) 将2.5 ng-1 μg总RNA稀释至50 μL于Nuclease-free PCR管中, 冰上放置备用。

### 2、磁珠清洗

- 2.1 将试剂从2 ~ 8°C取出, 室温下平衡 20 min, 将mRNA Capture Beads旋涡振荡5-10 sec至磁珠充分悬浮。
- 2.2 吸取10.5 μL mRNA Capture Beads至Nuclease-free PCR管中, 置于磁力架上2 min, 待溶液澄清后, 轻柔吸弃上清 (注意不要触动磁珠)。
- 2.3 从磁力架上取下PCR管, 加入52.5 μL mRNA Binding Buffer, 使用移液器反复吹打10次以上重新混匀磁珠, 注意避免起泡。将PCR管置于磁力架上2 min, 待溶液澄清后, 轻柔吸弃上清 (注意不要触动磁珠)。
- 2.4 从磁力架上取下PCR管, 加入52.5 μL mRNA Binding Buffer, 使用移液器反复吹打10次以上重新混匀磁珠, 注意避免起泡。

注: 清洗后的磁珠可在2 ~ 8°C储存一周, 使用前需再次将磁珠充分混匀。

### 3、mRNA捕获及纯化

#### 3.1 如下表进行体系配置

试剂名称	体积
清洗后的mRNA Capture Beads	50 $\mu$ L
Total RNA	50 $\mu$ L
Total Volume	100 $\mu$ L

3.2 将样品旋涡振荡混匀 (2000 rpm, 5 sec) , 短暂离心使所有液体流至PCR管底部。

注: 若使用移液器混合, 则需将体积设置为80  $\mu$ L, 反复吹打10次以上, 短暂离心。

3.3 将样品放入提前预热的PCR仪 (热盖80 $^{\circ}$ C, 25 $^{\circ}$ C HOLD) , 如下表进行反应, 使mRNA与捕获磁珠结合:

步骤	温度	时间
变性	75 $^{\circ}$ C	2 min
杂交	25 $^{\circ}$ C	5 min
HOLD	25 $^{\circ}$ C	HOLD

3.4 从PCR仪中取出样品置于磁力架上2 min, 待溶液澄清后吸弃上清, 不要触动磁珠。

3.5 向PCR管中轻轻加入180  $\mu$ L Elution Buffer, 待溶液澄清后吸弃上清, 不要触动磁珠。

注: 若使用的PCR管体积为300  $\mu$ L, 则需加入250  $\mu$ L Elution Buffer, 以便充分清洗吸附到管壁上的RNA。

3.6 从磁力架上取下样品, 加入100  $\mu$ L Elution Buffer, 旋涡振荡混匀 (2000 rpm, 5 sec) , 短暂离心使所有液体流至PCR管底部。

注: 若使用移液器混合, 则需将体积设置为80  $\mu$ L, 反复吹打10次以上, 注意避免产生过多气泡, 然后短暂离心。

### 4、mRNA再次捕获及纯化

4.1 将上述步骤的样品置于提前预热的PCR仪中 (热盖80 $^{\circ}$ C, 25 $^{\circ}$ C HOLD) , 如下表进行反应:

步骤	温度	时间
变性	75 $^{\circ}$ C	2 min
杂交	25 $^{\circ}$ C	5 min
HOLD	25 $^{\circ}$ C	HOLD

4.2 从PCR仪中取出样品置于磁力架上2 min, 待溶液澄清后吸弃上清, 不要触动磁珠。

4.3 再轻轻加入180  $\mu\text{L}$  Beads Washing Buffer, 待溶液澄清后吸弃上清, 不要触动磁珠。

**注:** 若使用的PCR管体积为300  $\mu\text{L}$ , 则需加入250  $\mu\text{L}$  Beads Washing Buffer, 以便充分清洗吸附到管壁上的RNA。

## 5、mRNA样本终洗脱

根据后续实验流程选择处理方式:

a. 若产物用于RNA文库构建, 推荐按照CW3085说明书加入相应体积的Frag/Prime Buffer进行文库构建。

b. 若产物用于逆转录反应, 从磁力架上取下样品, 加入10  $\mu\text{L}$  Nuclease-free ddH<sub>2</sub>O, 使用移液器反复吹打10次充分混匀。将样品置于PCR仪中80°C, 2 min后, 立即置于磁力架上静置3 min, 待溶液澄清后, 小心吸取8  $\mu\text{L}$ 上清至新的Nuclease-free PCR管中

**注:** 纯化产物可置于冰上继续进行相应分析应用 (建议立即进行后续反应), 也可置于-80°C保存。