

Library Preparation VAHTS™ mRNA Capture Beads

N401-01/02

Version 5.1



Vazyme biotech co., ltd.

产品简介

VAHTS™ mRNA Capture Beads是偶联了Oligo (dT) 的1 μm顺磁性微球，适合于从纯化的总RNA中分离poly (A)⁺ RNA。磁性分离技术可从小体积样品中分离出完整的mRNA，避免了mRNA沉淀的步骤。整个操作过程可在一小时内完成。

产品组成

组 分	N401-01 (24rxn)	N401-02 (96rxn)
mRNA Capture Beads	1.2 ml	4.8 ml
Beads Binding Buffer	1.2 ml	4.8 ml
Beads Wash Buffer	9.6 ml	38.4 ml
Tris Buffer	1.2 ml	4.8 ml
Nuclease-free水	1 ml	4 ml

储存条件

4 °C保存。

其他必需材料

磁力架

Nuclease-free PCR管

适用范围

适用于将poly(A)⁺ RNA从0.5 μg-11 μg完整度良好的总RNA(RIN值应≥8)中分离出来，不完整或降解的总RNA模板会导致部分poly(A)⁺ RNA信息的缺失。

使用方法

1. 将mRNA Capture Beads从4 °C取出，静置使其温度平衡至室温。
2. 准备RNA样品：在一个Nuclease-free PCR管中，用Nuclease-free水将0.5 μg-11 μg总RNA稀释至50 μl，冰上放置备用。
3. 颠倒或漩涡振荡使mRNA Capture Beads充分混匀，吸取50 μl加入到总RNA样品中，用移液器吹打6次以彻底混匀。
4. 将样品置于PCR仪中，65 °C 5 min，4 °C hold，使RNA变性。
5. 室温放置5分钟，使mRNA结合到磁珠上。
6. 将样品置于磁力架5分钟，使mRNA与总RNA分离；小心移除上清。
7. 将样品从磁力架上取出，用200 μl Beads Wash Buffer吹打6次以彻底混匀，在磁力架上静置5分钟，小心移除上清。
8. 将样品从磁力架上取出，用50 μl Tris Buffer重悬磁珠；用移液器吹打6次以彻底混匀。
9. 将样品置于PCR仪中，80 °C 2 min，25 °C hold，将mRNA洗脱下来。
10. 加入50 μl Beads Binding Buffer，用移液器吹打6次以彻底混匀。
11. 室温放置5分钟，使mRNA结合到磁珠上。
12. 将样品置于磁力架5分钟，使mRNA与总RNA分离；小心移除上清。
13. 将样品从磁力架上取出，用200 μl Beads Wash Buffer吹打6次以彻底混匀，在磁力架上静置5分钟，小心移除全部上清。
- 14A. 若纯化产物用于逆转录反应，将样品从磁力架上取出，加入10.5 μl Nuclease-free水，用移液器吹打6次以充分混匀，80 °C 2 min，立即置于磁力架上5分钟，待溶液澄清后，小心吸取8 μl上清至一个新的Nuclease-free PCR管中。
- 14B. 若纯化产物用于RNA文库构建，可根据VAHTS™ mRNA-seq v2 Library Prep Kit for Illumina®试剂盒(Vazyme #NR601)或VAHTS™ Stranded mRNA-seq Library Prep Kit for Illumina®试剂盒(Vazyme #NR602)说明书加入相应体积的Frag/Prime Buffer，进行文库构建。
15. 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)，也可置于-20 °C保存。

质量控制

VAHTS™ mRNA Capture Beads

0.5 µg-11 µg HeLa细胞总RNA中mRNA的回收率> 80%。

Beads Binding Buffer

16小时孵育检测：50 µl反应体系中包含Beads Binding Buffer和1 µg HindIII-λDNA，37 °C下孵育16小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，条带无降解；50 µl反应体系中包含10 µl本品和1 µg T3 DNA，37 °C下孵育16小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，条带无降解。

核酸内切酶残留：50 µl反应体系中加入Beads Binding Buffer和1 µg φX174 RF I DNA，37 °C下孵育4小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，RF II转化比率< 10%。

磷酸酶活性检测：磷酸酶活性检测缓冲液中包含Beads Binding Buffer和2.5 mM对硝基苯磷酸，37 °C下孵育4小时。经光谱测定法检测，405 nm处无对硝基苯阴离子特征吸收峰。

Beads Wash Buffer

16小时孵育检测：50 µl反应体系中包含Beads Wash Buffer和1 µg HindIII-λDNA，37 °C下孵育16小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，条带无降解；50 µl反应体系中包含10 µl本品和1 µg T3 DNA，37 °C下孵育16小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，条带无降解。

核酸内切酶残留：50 µl反应体系中加入Beads Wash Buffer和1 µg φX174 RF I DNA，37 °C下孵育4小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，RF II转化比率< 10%。

磷酸酶活性检测：磷酸酶活性检测缓冲液中包含Beads Wash Buffer和2.5 mM对硝基苯磷酸，37 °C下孵育4小时。经光谱测定法检测，405 nm处无对硝基苯阴离子特征吸收峰。

Tris Buffer

16小时孵育检测：50 µl反应体系中包含Tris Buffer 和1 µg HindIII-λDNA，37 °C下孵育16小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，条带无降解；50 µl反应体系中包含10 µl本品和1 µg T3 DNA，37 °C下孵育16小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，条带无降解。

核酸内切酶残留：50 µl反应体系中加入Tris Buffer 和1 µg φX174 RF I DNA，37 °C下孵育4小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，RF II转化比率< 10%。

磷酸酶活性检测：磷酸酶活性检测缓冲液中包含Tris Buffer 和2.5 mM对硝基苯磷酸，37 °C下孵育4小时。经光谱测定法检测，405 nm处无对硝基苯阴离子特征吸收峰。

Nuclease-free水

16小时孵育检测：50 µl反应体系中包含Nuclease-free水和1 µg HindIII-λDNA，37 °C下孵育16小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，条带无降解；50 µl反应体系中包含10 µl本品和1 µg T3 DNA，37 °C下孵育16小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，条带无降解。

核酸内切酶残留：50 µl反应体系中加入Nuclease-free水和1 µg φX174 RF I DNA，37 °C下孵育4小时。经琼脂糖凝胶电泳检测，RF II转化比率< 10%。

磷酸酶活性检测：磷酸酶活性检测缓冲液中包含Nuclease-free水和2.5 mM对硝基苯磷酸，37 °C下孵育4小时。经光谱测定法检测，405 nm处无对硝基苯阴离子特征吸收峰。