

天  
净  
沙  
系  
列

CAT#:980817-25

常温运输和保存

**BINGENE**

**mRNA 纯化试剂盒(Oligo-dT 纤维素法)**

**mRNA Isolation Kit (Oligo-dT Cellulose)**

---

**使用手册 V1.0**

---

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: [www.bingene.com](http://www.bingene.com); 电话: 400-6005850; 电邮: [order@bingene.com](mailto:order@bingene.com)

<p><b>产品及特点</b></p>	<p>mRNA 只占细胞总 RNA 的 3%左右,但却是最重要的 RNA,因为它们编码蛋白质。因此构建 cDNA 文库、蛋白质体外翻译和 RT-PCR 检测等研究常常都需要从总 RNA 中先分离 mRNA。真核 mRNA 带有 poly (A)尾巴,所以可以通过与 Oligo (dT)纤维素的亲和结合而与其他 97%左右的非编码 RNA (如 rRNA、tRNA 等)分离开。本产品就是基于此原理开发的、专门用于从总 RNA 中提取 mRNA 的试剂盒。它具有下列特点:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 一站式,即开即用,非常方便。</li> <li>2. 一次可以处理约 10-15 ug 总 RNA,从中可得 0.1-0.5 ug 左右的 mRNA。</li> <li>3. 每克 Oligo (dT)纤维素可以吸附 50-80 OD 的 mRNA,相当于 2000-3000 ug mRNA。</li> <li>4. 只需要离心就可以完成,免去了常规的灌柱、洗柱等繁琐操作。</li> <li>5. 得到的 mRNA 可以直接用于构建 cDNA 文库、蛋白质的体外翻译和 RT-PCR。</li> <li>6. 本试剂盒足够 25 次微量 mRNA 提取实验。</li> </ol>																												
<p><b>规格及成分</b></p>	<p style="text-align: center;">本产品用小扁盒包装</p> <table border="1" data-bbox="459 1064 1436 1512"> <thead> <tr> <th>成分</th> <th>编号</th> <th>规格</th> <th>包装材料</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>mRNA/Oligo-dT 结合液</td> <td>980817a</td> <td>100 mL</td> <td>120 mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>Oligo-dT 纤维素 (悬液)</td> <td>980817b</td> <td>25 mg</td> <td>0.5 mL 本色管</td> </tr> <tr> <td>Oligo-dT 纤维素保存液</td> <td>980817c</td> <td>10mL</td> <td>10 mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>RNase-free 水</td> <td>980403</td> <td>10 mL</td> <td>10 mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>微量核酸沉淀剂</td> <td>220313</td> <td>10 mL</td> <td>10 mL 本色瓶</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>980817sc</td> <td>1 份</td> <td>无</td> </tr> </tbody> </table>	成分	编号	规格	包装材料	mRNA/Oligo-dT 结合液	980817a	100 mL	120 mL 本色瓶	Oligo-dT 纤维素 (悬液)	980817b	25 mg	0.5 mL 本色管	Oligo-dT 纤维素保存液	980817c	10mL	10 mL 本色瓶	RNase-free 水	980403	10 mL	10 mL 本色瓶	微量核酸沉淀剂	220313	10 mL	10 mL 本色瓶	使用手册	980817sc	1 份	无
成分	编号	规格	包装材料																										
mRNA/Oligo-dT 结合液	980817a	100 mL	120 mL 本色瓶																										
Oligo-dT 纤维素 (悬液)	980817b	25 mg	0.5 mL 本色管																										
Oligo-dT 纤维素保存液	980817c	10mL	10 mL 本色瓶																										
RNase-free 水	980403	10 mL	10 mL 本色瓶																										
微量核酸沉淀剂	220313	10 mL	10 mL 本色瓶																										
使用手册	980817sc	1 份	无																										
<p><b>运输及保存</b></p>	<p>常温运输,收到货后 Oligo(dT)纤维素最好放-20℃长期保存,有效期一年。</p>																												
<p><b>自备试剂</b></p>	<p>75%乙醇</p>																												
<p><b>使用方法</b></p>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 涡旋震荡取 Oligo -dT 纤维素悬液,迅速取 50 uL Oligo -dT 纤维素悬液(相当于 5mg 干粉)到 1 个新的 1.5mL 离心管中,剩余的 Oligo-dT 纤维素重悬液放 4℃长期保存。</li> <li>2. 洗涤:在 50uL 的 Oligo -dT 纤维素重悬液中加入 0.5 mL mRNA/Oligo-dT 结合液(以下简称结合液)混匀,10000g 离心 3 分钟,去上清。</li> <li>3. 在 Oligo -dT 纤维素沉淀中加入 0.5 mL 结合液,吹打混匀,10000g 离心 3 分钟,去上清,所得 Oligo -dT 纤维素沉淀待用。</li> <li>4. 将自备的总 RNA 取 100uL 65℃保温 5 分钟,以打开 mRNA 可能的二级结</li> </ol>																												

构。未用的总 RNA-80℃保存作为未处理的对照。如果总 RNA 体积不足 100 uL, 则用 RNase-free 水补足到 120uL 并混匀, 留 20uL 做作为未处理的对照, 剩下的 100uL 65℃保温 5 分钟。

5. 保温结束后立即加入等体积 (100uL) 的结合液, 用移液枪充分吹打混匀。
6. 将混合液全部转移到第 2 步所得的 Oligo-dT 纤维素沉淀中, 用移液枪充分吹打重悬 Oligo-dT 纤维素, 室温放置 5 分钟。期间吹打混匀或者涡旋混匀数次以便让 mRNA 与 Oligo-dT 纤维素充分结合。
7. 室温 10000 g 离心 5 分钟, 小心将上清转移到一个新的离心管中。此上清液是去除了 mRNA 后的总 RNA, -80℃保存作为后续分析时的无 mRNA 对照。如果 mRNA 回收失败, 可以再次将其用于 mRNA 纯化。
8. 洗涤: 加入 0.5 mL 结合液, 混匀后 4℃ 10000g 离心 5 分钟, 小心弃上清。
9. 重复上步 3 次。
10. 加入 50 uL 冰上预冷的 RNase-free 水, 充分吹打混匀后 4℃ 10000 g 离心 5 分钟, 小心收集上清 (mRNA) 。
11. 重复上步 1 次。
12. 将两次收集的 mRNA 混合, 即为 100uL mRNA 溶液。
13. 由于 mRNA 只占总 RNA 的 3%左右, 100ug 总 RNA 最多只能得到 3ug mRNA, 溶解在 100uL 水中, 浓度也只有 30ng/uL。所以如果需要浓缩 mRNA, 可以按下面附 1 操作进行。本试剂盒含相关试剂。
14. 第 11 步剩下的 Oligo-dT 纤维素可以再生后重复使用。一般可以重复使用至少 5 次。再生的流程见附录 2。本试剂盒含部分相关试剂。

#### 附 1: mRNA 的浓缩

15. 将微量核酸充分摇匀 (静止太久有沉淀, 属于正常现象), 立即取 200uL 与 100uL mRNA 溶液混合。
16. 室温 15000g 离心 10 分钟。
17. 弃上清, 小心不要吸走沉淀 (mRNA) 。
18. 加入自备的 75%乙醇 1 mL, 振荡 10 秒混匀。
19. 15000g 离心 3 分钟, 弃上清, 小心不要吸走沉淀 (mRNA 沉淀) 。
20. 再短暂离心后小心吸弃残留上清 (约 50uL) 。
21. 沉淀即为回收的 mRNA 沉淀, 不要长期放置 (否则晾干太长时间 mRNA 不容易溶解), 立即加入适量的 RNase-free 水溶解 mRNA。mRNA 可用于

后续实验，或放-80℃保存。

附 2: Oligo-dT 纤维素的再生

22. 加入 1mL 0.3mol/L 的 NaOH 到第 12 步取走 mRNA 上清后剩下的 Oligo-dT 纤维素沉淀中，吹打重悬后室温放置 5 分钟，此步可以降解所有残留的 RNA。
23. 离心吸弃 NaOH 溶液。
24. 用结合液洗涤 Oligo-dT 纤维素直到 pH 变成中性（用 pH 试纸检测）。
25. 加入 250uL Oligo-dT 纤维素保存液放 4℃ 长期保存。
26. 用前需离心去掉 Oligo-dT 纤维素保存液。
27. 用结合液洗涤 3 次。
28. 重悬在 100uL 结合液中，然后切入到第 3 步。

**相关产品**

动物 RNA 纯化试剂