

# MGIEasy

## rRNA 去除试剂盒使用说明书

---

货号: 1000005953 ( 32 RXN )

试剂盒版本号: V1.2

说明书版本号: A5

## 版本历史

说明书版本	试剂盒版本	修订日期	修订内容摘要
A5	V1.2	2021年1月	<ul style="list-style-type: none"> <li>更新公司联系信息</li> </ul>
A4	V1.2	2020年7月	<ul style="list-style-type: none"> <li>试剂盒装量适配 MGISP-960 自动化建库需求</li> <li>公司名称修改为深圳华大智造科技股份有限公司</li> <li>更换说明书新模板</li> </ul>
A3	V1.1	2019年10月	<ul style="list-style-type: none"> <li>产品描述中去除的 rRNA 类型增加了 16 S rRNA;</li> <li>RNA 纯度要求中增加 OD260/230 的要求;</li> <li>表 11. FFPE 样本建库的推荐条件中增加了 RNA 纯化磁珠的使用量。</li> </ul>
A2	V1.1	2018年10月	<ul style="list-style-type: none"> <li>修改样品起始量, 对于常规样本 (RIN<math>\geq</math>7) 最低可 10ng 起始; total RNA 样本质量要求中增加了 RIN 值为 N/A 的说明;</li> <li>去掉测序平台限制;</li> <li>增加了产物质控步骤;</li> <li>增加了附录, 附录中增加 total RNA 样本的 DNase I 的消化反应条件、FFPE 样本的适用条件、DV200 的计算方法以及磁珠的使用注意事项;</li> <li>说明书格式修改。货号改变以及效期表述修改。</li> </ul>
A1	V1.1	2017年12月	<ul style="list-style-type: none"> <li>修改步骤 2.2 中的反应体系, 由 5<math>\mu</math>L 修改为 25<math>\mu</math>L;</li> <li>修改步骤 2.2 中的 Probe Mix 用量, 由 1<math>\mu</math>L 修改为 2 <math>\mu</math>L;</li> <li>修改步骤 4.2 中的反应体系, 由 40<math>\mu</math>L 修改为 50<math>\mu</math>L;</li> <li>修改步骤 5.2 中的磁珠用量, 由 60<math>\mu</math>L 修改为 75<math>\mu</math>L。</li> </ul>
A0	V1.0	2017年6月	<ul style="list-style-type: none"> <li>首次发布</li> </ul>

提示: 请下载最新版说明书, 对照相应版本的试剂盒使用。

搜索货号或产品名, 下载说明书: [www.mgi-tech.com/download/files](http://www.mgi-tech.com/download/files)

# 目录

第一章 产品信息.....	1
1.1 产品描述.....	1
1.2 适用范围.....	1
1.3 试剂盒组分.....	1
1.4 试剂盒储存条件及有效期.....	1
1.5 客户自备物料清单.....	2
1.6 注意事项.....	3
第二章 样本要求及处理.....	4
2.1 适用样本类型及投入量的要求.....	4
2.2 total RNA 样本质量要求.....	4
第三章 文库构建标准流程.....	5
3.1 探针杂交.....	5
3.2 RNase H 消化.....	5
3.3 DNase I 消化.....	6
3.4 RNA 的纯化.....	7
3.5 产物质检.....	8
附录.....	9
附录 A 关于 RNA 样本的 DNase I 消化.....	9
附录 B 关于 FFPE 样本.....	11
附录 C 关于磁珠纯化.....	13

# 第一章 产品信息

## 1.1 产品描述

MGIEasy rRNA去除试剂盒适用于低至10 ng的人、小鼠及大鼠total RNA样品中rRNA（包括细胞质5 S rRNA、5.8 S rRNA、18 S rRNA、28 S rRNA，线粒体12 S rRNA，16 S rRNA，前体45 S rRNA）的去除，保留mRNA以及其它的非编码RNA，用于后续分析。本试剂盒适用于完整的和部分降解的total RNA样品（例如FFPE RNA），可与RNA文库制备试剂盒（如“MGIEasy RNA文库制备试剂盒”或“MGIEasy RNA方向性文库制备试剂盒”）搭配使用，用于RNA定量、转录组或非编码RNA等相关领域的研究。

## 1.2 适用范围

本试剂盒适用于人、小鼠及大鼠的total RNA样本。

## 1.3 试剂盒组分

MGIEasy rRNA去除试剂盒规格为32 RXN（货号：1000005953），其组分信息如下表1：

表 1 MGIEasy rRNA 去除试剂盒（32 RXN）（货号：1000005953）组分信息

试剂盒种类与储存温度	组分信息	瓶盖颜色	规格及数量
MGIEasy rRNA 去除试剂盒 (储存温度：-25°C-- 18°C)	Probe Mix	白色	68 $\mu$ L $\times$ 1
	Hybridization Buffer	白色	227 $\mu$ L $\times$ 1
	RNase H Buffer	白色	163 $\mu$ L $\times$ 1
	RNase H	白色	91 $\mu$ L $\times$ 1
	DNase I Buffer	白色	587 $\mu$ L $\times$ 1
	DNase I	白色	187 $\mu$ L $\times$ 1

## 1.4 试剂盒储存条件及有效期

- 储存温度：-25°C--15°C
- 有效期：见试剂盒标签
- 运输条件：干冰运输

\*干冰运输，请注意检查收到产品时是否有干冰剩余。

\*当运输条件、储存条件及使用方式都正确时，所有组分在有效期内均能保持完整活性。

## 1.5 客户自备物料清单

实验开始前，需自备的物料清单如表2所示。其中，“可选”物料是根据具体的实验操作而定，若RNA样本需要进行DNA污染的消化，且消化后需要定量，则需要自备“Qubit® 3.0 荧光定量仪”及对应试剂和试管；若去除核糖体之后的RNA样本需要进行条带分布检测，则需要自备“Agilent 2100 Bioanalyzer”及对应试剂。

表2 客户自备物料清单

仪器	漩涡混匀仪 小型离心机 移液器 PCR 仪（Bio-Rad，可梯度降温） 磁力架（ThermoFisher, Cat. No. 12321D） Qubit® 3.0 荧光定量仪（Invitrogen, Cat. No. Q33216）（可选） Qubit 定量管（Invitrogen, Cat. No. Q32856）（可选） Agilent 2100 Bioanalyzer（Agilent Technologies, Cat. No. G2939AA）
试剂	Nuclease free water（NF water）（Ambion, Cat. No. AM9937） RNase Zap（Ambion, Cat. No. AM9780） RNA 纯化磁珠（Agencourt RNAClean XP 40 mL Kit, Agencourt, Cat. No. A63987） 无水乙醇（分析纯） DNase I（NEB, Cat. No. M0303S）（可选） Qubit™ RNA HS Assay Kit（Invitrogen, Cat. No. Q32852）（可选） Agilent RNA 6000 Pico Kit（Agilent, Cat. No. 5067-1513）（可选）
耗材	无 RNA 酶的移液器吸头 1.5 mL 无核酸酶不粘管，Non-stick RNase-Free（Ambion, Cat. No. AM12450） 0.2 mL 无核酸酶 PCR 管（Axygen, Cat. No. PCR-02-C）或 96 孔板（Axygen, Cat. No. PCR-96M2-HS-C）

## 1.6 注意事项

- 本产品仅用于科研用途，不用于临床诊断，使用前请仔细阅读本说明书。
- 本说明书提供的实验流程是通用的，可根据需要调整反应参数，以优化性能，提高实验效率。
- RNA 操作前需戴好口罩手套，用 RNase Zap 杂交液喷洒并擦拭移液器、试管架及桌面。
- 试剂盒内各组分使用前提前取出，将酶瞬时离心后置于冰上待用，其他组分于室温解冻。解冻后上下颠倒数次充分混匀，瞬时离心后置于冰上待用。
- 配制各步骤反应液时推荐使用移液器吹打至少十次混匀，切勿剧烈震荡，请在冰上配制反应混合液。
- 需使用 RNase-Free 的吸头，为避免样品交叉污染，推荐使用带滤芯的吸头，吸取不同样品时请更换吸头。
- 本实验过程中会涉及到梯度降温的步骤，需使用带梯度降温功能的 PCR 仪。推荐在带热盖的 PCR 仪中进行各步骤反应，使用前应预热 PCR 仪至反应温度附近。若无特殊说明，热盖温度设置为 105°C。
- 为避免实验过程中引入污染，推荐使用专用的移液器等设备，并定时对各实验区域进行清洁（使用 0.5% 次氯酸钠或 10% 漂白剂进行擦拭清理），以保证实验环境的洁净度。
- 若您有其他疑问，请联系 MGI 技术支持：[MGI-service@mgi-tech.com](mailto:MGI-service@mgi-tech.com)

## 第二章 样本要求及处理

### 2.1 适用样本类型及投入量的要求

本试剂盒适用于人、小鼠及大鼠的total RNA样本进行核糖体RNA的去除，同样适用于FFPE等低质量的样本（请参见附录B）。对于RIN值（RNA Integrity Number） $\geq 7$ 的样本，推荐的input RNA量为10 ng – 1  $\mu$ g的total RNA，样本总投入体积 $\leq 18 \mu$ L，对于低质量的RNA样本（RIN $< 7$ ），建议投入量不低于200ng。

### 2.2 total RNA 样本质量要求

- 用 Agilent 2100 Bioanalyzer 对提取的 total RNA 样本进行质控，要求 RIN 值 $\geq 7$ 。若 RIN $< 7$ ，总投入量建议不超过 1  $\mu$ g，在后续二代测序文库构建时，可适当增加投入量并提高 PCR cycles。若 RIN 为 N/A，则不建议使用此类样本进行文库构建。
- RNA 纯度：OD<sub>260/280</sub>=1.8~2.0，OD<sub>260/230</sub> $\geq 2$ 。OD<sub>260/230</sub> $\leq 0.2$  时会显著影响 rRNA 去除效果。若 OD<sub>260/230</sub> $< 2$ ，建议使用 RNA 纯化磁珠先对 total RNA 样本进行纯化后再进行后续实验，具体操作可参考 3.4 RNA 的纯化。
- 需保证 RNA 样本无基因组 DNA 污染，否则会影响 rRNA 的去除效果。若有污染（可用琼脂糖凝胶电泳检测），需先用 DNase I 进行消化，具体操作参见附录 A。
- 若样本量不足，可尝试使用较低的投入量，可能会导致后续二代测序文库构建时的 PCR 产量较低、分析结果中比对率较低等结果。

## 第三章 文库构建标准流程

本标准实验流程input RNA来源：200 ng total RNA (UHRR, Universal Human Reference RNA), RIN值 $\geq 7$ 。



**注意：**以下操作步骤中，样品切忌涡旋混匀，用吸头混匀即可。

### 3.1 探针杂交

3.1.1 根据 total RNA 浓度，取适量样本（推荐 200 ng）至 0.2 mL PCR 管中，用 NF water 补足体积至 18  $\mu\text{L}$ 。将 Probe Mix 和 Hybridization Buffer 从  $-20^{\circ}\text{C}$  取出，冰浴解冻后涡旋混匀，备用。



**注意：**Probe Mix 使用前务必充分混匀，涡旋震荡 5–6 次，每次 3–5 s；试剂配制时，Probe Mix 和 Hybridization Buffer 需要分开加到 RNA 样品中，避免将二者配成混合液之后使用。

3.1.2 在冰上配制杂交反应混合液（见表 3）。

表 3 杂交反应混合液

组分	体积
Total RNA	18 $\mu\text{L}$
Hybridization Buffer	5 $\mu\text{L}$
Probe Mix	2 $\mu\text{L}$
Total	25 $\mu\text{L}$

3.1.3 将上述反应混合液用移液器轻轻吹打至少 10 次混匀后，置于 PCR 仪上，按表 4 条件进行反应。

表 4 杂交反应条件

温度	时间
热盖	On
95 $^{\circ}\text{C}$	2 min
95 $^{\circ}\text{C}$ –22 $^{\circ}\text{C}$	0.1 $^{\circ}\text{C}$ / s
22 $^{\circ}\text{C}$	5 min

3.1.4 约 20 min 可以完成反应，反应结束后，立即置于冰上 2 min，瞬时离心将反应液收集至管底。

### 3.2 RNase H 消化

3.2.1 将 RNase H Buffer 从  $-20^{\circ}\text{C}$  取出，冰浴解冻后涡旋混匀，备用。

3.2.2 在冰上配制 RNase H 消化反应混合液（见表 5）。



表 5 RNase H 消化反应混合液

组分	体积
上步产物	25 $\mu$ L
RNase H	2 $\mu$ L
RNase H Buffer	3 $\mu$ L
Total	30 $\mu$ L

3.2.3 将上述反应混合液用移液器轻轻吹打至少 10 次混匀后，置于 PCR 仪上，按表 6 条件进行反应：

表 6 RNase H 消化反应条件

温度	时间
热盖 (45°C)	On
37°C	30 min
4°C	$\infty$



**注意：**若 PCR 仪热盖无法设置成 45°C，应采用靠近原则，即仪器能设置的最接近 45°C 的条件。

3.2.4 瞬时离心将反应液收集至管底。

### 3.3 DNase I 消化

3.3.1 将 DNase I Buffer 从 -20°C 取出，冰浴解冻后涡旋混匀，备用。

3.3.2 在冰上配制 DNase I 消化反应混合液（见表 7）：

表 7 DNase I 消化反应混合液

组分	体积
上步产物	30 $\mu$ L
DNase I	5 $\mu$ L
DNase I Buffer	15 $\mu$ L
Total	50 $\mu$ L

3.3.3 将上述反应混合液用移液器轻轻吹打至少 10 次混匀后，置于 PCR 仪上，按表 8 条件进行反应：

表 8 DNase I 消化反应条件

温度	时间
热盖 (45°C)	on
37°C	30 min
4°C	$\infty$

- 3.3.4 瞬时离心将反应液收集至管底。
- 3.3.5 将产物全部转移到新的 1.5 mL 不粘管中。

### 3.4 RNA 的纯化



**注意：操作前请仔细阅读附录 C，此步的 RNA 纯化必须使用不粘管。**

- 3.4.1 提前 30 min 从 4°C 冰箱取出 RNA 纯化磁珠置于室温，使用前充分震荡混匀。
- 3.4.2 用移液器吸取 75  $\mu$ L 磁珠至步骤 3.3.5 中的 DNase I 消化后产物中，并轻轻吹打至少 10 次至完全混匀，最后一次应确保将吸头中所有液体及磁珠都打入不粘管中。
- 3.4.3 室温孵育 5 min。
- 3.4.4 瞬时离心，将不粘管置于磁力架，静置 2-5 min 至液体澄清，移液器小心吸取并丢弃上清。
- 3.4.5 保持不粘管固定于磁力架上，加入 200  $\mu$ L 用 NF water 新鲜配制的 80%乙醇漂洗磁珠及管壁，静置 30 s 后小心吸取并丢弃上清。
- 3.4.6 重复步骤 3.4.5 一次，尽量吸干管内液体，有少量残留在管壁时可将离心管瞬时离心，在磁力架上分离后，用小量程的移液器将管底液体吸干。
- 3.4.7 保持不粘管固定于磁力架上，打开不粘管管盖，室温干燥，直至磁珠表面无反光、无开裂。
- 3.4.8 将不粘管从磁力架上取下，加入适量的 NF water 进行 RNA 洗脱，用移液器轻轻吹打至少 10 次至完全混匀。



**注意：步骤 3.4.8 中从磁珠上洗脱 RNA 样品时，需根据后续操作要求取适量体积的 NF water 进行洗脱（例如，后续使用“MGIEasy RNA 文库制备试剂套装”或“MGIEasy RNA 方向性文库制备试剂套装”进行二代测序文库构建，则加入 12  $\mu$ L NF water 洗脱，洗脱后吸取 10  $\mu$ L 上清进行后续的 RNA 片段化反应）。**

- 3.4.9 室温下孵育 5 min。
- 3.4.10 瞬时离心，将不粘管置于磁力架上，静置 2-5 min 至液体澄清，吸取上清液转移到新的无核酸酶的 PCR 管中。
- 3.4.11 纯化后的样品可置于冰上继续进行二代测序文库构建或者其它分析反应，若是过夜保存，可置于-20°C，若是长期保存，可置于-80°C 不超过一周（建议立即进行后续反应）。

### 3.5 产物质检

去除核糖体RNA的样本经纯化后，用如下方法进行质控检测：



**注意：**此步质控为可选操作，若去除后的 RNA 产物直接用于二代测序的文库构建，建议免去此步中间质控环节。

3.5.1 取 1  $\mu$ L 纯化后的样本，采用 Agilent RNA 6000 Pico 芯片（需自备，见“客户自备物料清单”，具体操作步骤见该产品的操作说明），用 Agilent 2100 Bioanalyzer 进行检测。如图 1A，在未去除核糖体 RNA 的 total RNA 样本 2100 图中，有明显的 18 S 和 28 S 峰；如图 1B，在去除核糖体 RNA 后的 RNA 样本 2100 图中，18 S 和 28 S 峰消失，去除效果较好。



**注意：**Agilent RNA Nano 芯片达不到检测的灵敏度要求

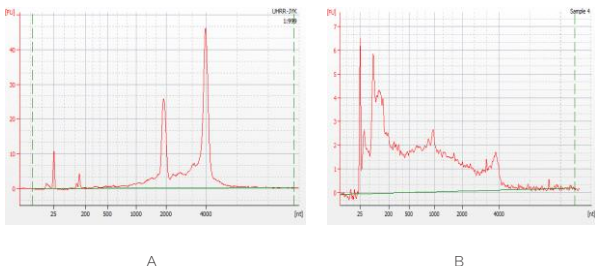


图 1 RNA 样本使用 Agilent RNA 6000 Pico 芯片检测结果

A. 标准品UHRR total RNA的检测结果

B. 经“MGIEasy rRNA去除试剂盒”去除核糖体RNA之后的UHRR样本检测结果

3.5.2 根据 Agilent 2100 Bioanalyzer 检测的浓度结果，去除核糖体 RNA 之后，剩余 RNA 的总量不超过总投入量的 8%，例如，若 total RNA 的投入量是 200 ng，去核糖体 RNA 之后，剩余 RNA 的总量不超过 16 ng。

## 附录

### 附录 A 关于 RNA 样本的 DNase I 消化

若RNA样本中有基因组DNA污染,可先用DNase I(需自备,见“客户自备物料清单”)对样本进行消化。因DNase I消化的操作会造成一定的RNA样本损失,所以该步骤total RNA投入量需要比预期投入量(本试剂盒所需的RNA投入量)适当增加20%~30%,例如,若需要投入200ng total RNA样本进行核糖体RNA的去除,那么在此步的DNase I消化时,需要投入250~286 ng total RNA样本进行消化,具体消化步骤如下:

- a) 取适量的 RNA 样本于无核酸酶的 0.2 mL PCR 管中,用 NF water 补足体积至 42.5  $\mu$ L,在冰上配制消化反应混合液(见表 9):

表 9 消化反应混合液

组分	体积
total RNA	42.5 $\mu$ L
DNase I	2.5 $\mu$ L
10 $\times$ DNase I Buffer	5 $\mu$ L
Total	50 $\mu$ L

- b) 将上述反应混合液轻轻吹打混匀后,置于 PCR 仪上,如表 10 条件进行反应:

表 10 消化反应条件


温度	时间
热盖 (45 $^{\circ}$ C)	on
37 $^{\circ}$ C	20 min
4 $^{\circ}$ C	$\infty$

- c) 反应结束后,瞬时离心,将液体全部转移到新的 1.5 mL 不粘管中,用 90  $\mu$ L RNA 纯化磁珠对产物进行纯化,纯化过程如下:



**注意: 操作前请仔细阅读附录 C, 此步的 RNA 纯化必须用不粘管。**

- 1) 提前 30 min 从 4 $^{\circ}$ C 冰箱取出 RNA 纯化磁珠置于室温,使用前充分震荡混匀。
- 2) 用移液器吸取 90  $\mu$ L 磁珠至步骤 3 中的 DNase I 消化后产物中,并轻轻吹打至少 10 次至完全混匀,最后一次应确保将吸头中所有液体及磁珠都打入不粘管中。
- 3) 室温孵育 5 min。
- 4) 瞬时离心,将不粘管置于磁力架,静置 2~5 min 至液体澄清,用移液器小心吸取并丢弃上清。

- 5) 保持不粘管固定于磁力架上，加入 200  $\mu\text{L}$  用 NF water 新鲜配制的 80%乙醇漂洗磁珠及管壁，静置 30 s 后小心吸取并丢弃上清。
  - 6) 重复步骤 5) 一次，尽量吸干管底液体，有少量残留在管壁时可将离心管瞬时离心，在磁力架上分离后，用小量程的移液器将管底液体吸干。
  - 7) 保持不粘管固定于磁力架上，打开不粘管管盖，室温干燥直至磁珠表面无反光、无开裂。
  - 8) 将不粘管从磁力架上取下，移液器取适量体积的 NF water 进行 RNA 洗脱，用移液器轻轻吹打至少 10 次至完全混匀。
-  **注意：若纯化后的样本需定量，洗脱时加入 21  $\mu\text{L}$  NF water，洗脱后转移 19  $\mu\text{L}$  上清液到新的无核酸酶的 PCR 管中，取 1  $\mu\text{L}$  产物用“Qubit™ RNA HS Assay Kit”（见“客户自备物料清单”）进行定量；若纯化后的产物不定量，洗脱时加入 20  $\mu\text{L}$  NF water，洗脱后转移 18  $\mu\text{L}$  上清液到新的无核酸酶的 PCR 管中进行后续的“探针杂交”反应。**
- 9) 室温下孵育 5 min
  - 10) 瞬时离心，将不粘管置于磁力架上，静置 2-5 min 至液体澄清，吸取上清液转移到新的无核酸酶的 PCR 管中，进行后续的“探针杂交”反应。

## 附录 B 关于 FFPE 样本

本操作流程适用于FFPE等低质量的total RNA样本，但由于不同FFPE样本的质量差距较大，因此并不能保证所有的FFPE样本都可以完成二代测序文库的构建。现以本试剂盒搭配使用“MGIeasy RNA文库制备试剂盒”进行二代测序文库构建为例，列举不同质量的FFPE样本在二代测序文库构建中需要注意的问题。

### B-1 FFPE 样本的质量评价

常规评价RNA样本质量的参数是RIN值，但是对于FFPE这种降解的样本，并不能完全用RIN值来准确衡量样本的质量，特别是在二代测序文库构建中，FFPE样本的RIN值并不完全跟文库构建成功率之间成正比例关系。所以，在评价FFPE样本的文库构建成功率时，还需要用到DV<sub>200</sub>，DV<sub>200</sub>表示样本中大于200nt的RNA片段所占的比例，对于降解严重的FFPE样本，DV<sub>200</sub>值能够更好的反应样本的质量。

#### DV<sub>200</sub>的计算方法

以Agilent 2100 Bioanalyzer的分析结果为为例，进行DV<sub>200</sub>的计算，具体计算方法如图2所示：

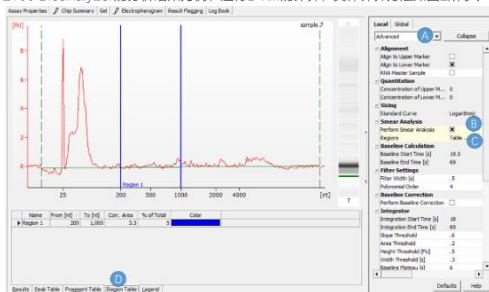


图 2 DV<sub>200</sub>的计算方法

- A: 在一个检测完成的 Agilent 2100 Bioanalyzer 结果图中，在 *Local* 下选择 *Advanced*
- B: 勾选 *Smear Analysis* 下的 *Perform Smear Analysis* 选项
- C: 双击 *Table*，输入需要计算的片段范围，图中以 *From 200 bp To 1000 bp* 为例
- D: 在 *Region Table* 下即可得到所选片段范围所占的比例 *% of Total*

若需要确定FFPE样本的DV<sub>200</sub>参数，可以将FFPE样本进行Agilent 2100 Bioanalyzer分析（采用RNA分析芯片）后，按照以上的方法进行计算，具体可参考文件 *DV<sub>200</sub> determination for FFPE RNA samples* (<https://www.agilent.com/en/promotions/dv200-determination>)。

## B-2 FFPE 样本的推荐投入量

对于FFPE样本，在进行核糖体去除时建议根据不同DV<sub>200</sub>的样本使用不同的total RNA投入量。另外，去除核糖体RNA之后的样本，若需要继续进行二代测序文库的制备，在“RNA片段化”的步骤中需注意不同的样本使用不同的打断条件，同时，在PCR时对应使用不同的PCR cycles，具体见表11。

表 11 FFPE 样本建库的推荐条件

DV <sub>200</sub> 值	推荐的 total RNA 投入量	RNA 纯化		PCR cycles
		磁珠用量	片段化条件	
> 70%	200 ng	75 $\mu$ L	94°C, 8 min	14
50-70%	200-400 ng	100 $\mu$ L	94°C, 8 min	16
30-50%	500 ng	100 $\mu$ L	94°C, 6 min	16
< 30%	0.5-1 $\mu$ g 风险建库	100 $\mu$ L	不打断	16

注：a. 上表中的“片段化条件”是指“MGIEasy RNA文库制备试剂套装使用说明书”或“MGIEasy RNA方向性文库制备试剂套装使用说明书”中“RNA片段化”步骤中的打断条件；

b. 上表中的“PCR cycles”是指“MGIEasy RNA文库制备试剂套装使用说明书”或“MGIEasy RNA方向性文库制备试剂套装使用说明书”中“PCR扩增”步骤中的PCR cycles。

来源于不同组织的FFPE样本可能会有不同的表现，此表仅作为参考，具体文库构建策略可视样本情况进行调整。

## 附录 C 关于磁珠纯化

本试剂盒中使用Agencourt RNAClean XP 40 mL Kit进行RNA样本的纯化，如果使用其它来源磁珠，纯化条件需要重新摸索。

### 磁珠使用前注意事项

- 磁珠使用前，提前 30 min 从 4°C 取出，使其平衡至室温，有利于保证回收效率。
- 磁珠每次使用前，需振荡或用移液器上下吹打，确保充分混匀。

### 磁珠操作注意事项

- 若待纯化的样本体积因温度孵育导致蒸发，应用 TE Buffer 或 NF water 补齐体积，再用推荐的磁珠用量进行纯化，以保证纯化的条带正确。
- 样本与磁珠充分混匀后置于磁力架上进行分离时，请于溶液彻底澄清后再吸取上清，一般需要 2-3 min。但由于磁力架吸力不同等原因，推荐分离时间有时可能需要延长，以液体彻底澄清为准。
- 磁珠与液体分离时，注意吸头不可碰到磁珠，最后可余留 2-3  $\mu\text{L}$  液体，避免吸到磁珠。若不慎吸到磁珠，可将磁珠与液体全部打回管内，再次分离后重新吸取上清。
- 磁珠乙醇漂洗应使用新鲜配制并平衡至室温的 80%乙醇。漂洗过程中不粘管应始终置于磁力架中，请勿扰动磁珠。
- 第二次乙醇漂洗应尽量吸干管底液体，有少量残留在管壁时可将不粘管瞬时离心，在磁力架上分离后，用小量程的移液器把管中液体吸干。
- 两次乙醇漂洗后，应在室温下充分干燥磁珠。干燥不充分（磁珠表面反光）容易造成无水乙醇残留影响后续反应，过分干燥（磁珠开裂）又会降低纯化得率。通常情况下，室温干燥需要 5-10 min，但由于室内温度和湿度的差异，干燥时间可能会不同，应随时观察，磁珠表面无反光，即可进行产物洗脱。
- 洗脱后吸取上清时，切忌触碰磁珠，若吸到磁珠可能会影响后续的纯化反应，所以，洗脱体积应该比最终吸取上清的体积多 2  $\mu\text{L}$ 。
- 在 1.5 mL 磁力架上开关管盖应小心，避免剧烈震动导致磁珠或液体弹出，建议用手指固定不粘管中下段，然后开盖。



联系我们

生产企业: 深圳华大智造科技股份有限公司

生产地址: 深圳市盐田区北山工业区综合楼及 11 栋 2 楼

客服电话: 4000-966-988

技术支持: MGI-service@mgi-tech.com

网 址: www.mgi-tech.com



官方微信