

产品组分

组分	体积
吸附磁珠	300 μ L
T Reagent	20 μ L
10 $\times$ T Buffer	50 μ L
Buffer I	1mL*2
Buffer II	10mL
EB Buffer	1mL
RNase-free ddH ₂ O	1mL

保存条件

T Reagent、10 $\times$ T Buffer 于-20 $\pm$ 5 $^{\circ}$ C保存; 其余成分存放于 2-8 $^{\circ}$ C。磁珠切勿冻融。

操作流程

1. T Reagent 酶切样品

建议酶切体系 (50 μ L) :

试剂	投入量
T Reagent	5 μ L
RNA样品	50 μ g
10 $\times$ T Buffer	5 μ L
RNase-free ddH ₂ O	Up to 50 μ L

37 $^{\circ}$ C酶切 2h。

2. 吸附磁珠回收

1) 酶切样品处理

酶切完的样品+50 μ L Buffer I 混匀。

2) 磁珠准备

提前将磁珠取出, 平衡至室温。然后将磁珠混匀后, 取 100 μ L 磁珠加入无核酸酶离心管中, 放至磁力架, 磁性分离去上清, 随后从磁力架取下。

3) 磁珠处理

上述管中加入 100 μ L Buffer I ,充分混匀后, 磁性分离去上清, 重复 2 次。

4) 上样

将清洗完的磁珠加 100 μ L Buffer I 重悬, 然后加入步骤 1) 中稀释的酶切样品, 混匀室温混匀 30min。

5) 洗杂

上述管中加入 200 μ L Buffer II ,磁性分离去上清, 清洗磁珠 4 次, 随后从磁力架取下。

6) 洗脱

取 25 μ L 预热至 80 $^{\circ}$ C的 EB Buffer 和磁珠充分混匀, 80 $^{\circ}$ C加热 4min, 磁性分离保留上清至标记好的无核酸酶离心管中, 重复此步骤 2 次, 最后将两次得到的上清混合, 再次置于磁力架吸附, 确保去除少量残留磁珠。

注意: 制备的样品中若含有磁珠会对检测设备、色谱柱造成伤害, 为避免发生此类情况, 吸取上清时避免触碰到磁珠, 以上制备的样品体积足够后续的应用。

注意事项

1. 按要求保存试剂盒中的组分, T Reagent、10× T Buffer 存放于-20℃, 其余试剂存放于 4℃, 注意吸附磁珠不能冻融。
2. 本试剂盒中提供的磁珠、试剂等材料经过了大量筛选验证, 为保证处理效果, 请勿随意更换试剂盒中提供的材料, 否则将无法保证实验效果。
3. 本试剂盒处理后的样品应当及时上机测试, 样品存放时间尽可能小于 1 周。
4. 实验过程中注意个人防护。
5. 使用前应混匀, 避免反复冻融。