

Oligo(dT)₂₅ 磁性聚合物微球

1 产品介绍

Oligo(dT)₂₅ 磁性聚合物微球 (Oligo(dT)₂₅ Magpoly Beads) 是通过将生物素化 Oligo(dT)₂₅ 与链霉素和素聚合物磁珠相结合而成, 利用 Oligo(dT)₂₅ 与 mRNA(poly(A)+RNA) 的相互作用原理, 可以直接从 Total RNA、培养细胞、组织等中提取 mRNA, 并用于下游分子生物学实验的模板, 包括 RT-PCR、Northern blot、cDNA 文库构建、体外翻译等。

产品特点及优势:

- 粒径均一, 单分散性良好;
- 非特异性吸附低, 特异性高, 提取的 mRNA 纯度高;
- 超顺磁性, 磁含量高, 可确保磁珠快速分离;
- 提取产物中的磁珠可以不用洗脱而直接进入下游的实验操作。

2 注意事项

- 1) 使用本产品前, 请仔细阅读产品说明书。
- 2) 磁珠保存过程中应避免冷冻/干燥和高速离心等操作, 否则会破坏磁珠的结构, 严重影响蛋白结合能力。
- 3) 在使用磁珠前, 请温和的、充分的振荡, 使磁珠保持均匀的悬浮状态。
- 4) 使用过的磁珠重复使用时, 建议纯化同一 RNA 样本, 纯化不同 RNA 样本时, 建议使用新的磁珠, 以避免交叉污染。

3 捕获流程

3.1 缓冲液的准备

缓冲液可使用下列推荐 Buffer, 也可根据自己的使用习惯配置不同的缓冲液体系, 基本原理就是高盐结合, 低盐洗脱。缓冲液缓冲液需用 DEPC 水或 RNase-free 水进行配制。具体配置方法见表 2。

表 2. mRNA 捕获所需缓冲液及配方

名称	体积	配方
Binding Buffer	1 L	20mM Tris 2.4228 g
		1.25M LiCl 52.9875 g
		2mM EDTA 0.5844 g
		使用 HCl 溶液调节 pH 至 7.5
Wash Buffer	1 L	10mM Tris 1.2114 g
		0.15M LiCl 6.3585 g
		1mM EDTA 0.2922 g
		使用 HCl 溶液调节 pH 至 7.5
Elution Buffer	1 L	10mM Tris 1.2114 g
		1mM EDTA 0.2922 g
		使用 HCl 溶液调节 pH 至 7.5

3.2 样品准备

- 1) 用 DEPC 水将 100~1000 ng Total RNA 稀释至 50 μ l。可以根据 RNA 浓度调整稀释体积, 建议 20-50 μ l。
- 2) 添加 50 μ l 的 Binding Buffer, 65 $^{\circ}$ C 加热 5 min 打开 RNA 的二级结构, 立刻放置到冰上备用。

3.3 mRNA 捕获

1) 磁珠准备

将 Oligo(dT)₂₅ Magpoly Beads 从 2-8℃ 冰箱取出，震荡涡旋 30s 或颠倒平衡 5 min，充分悬浮磁珠，使用移液器吸取适量的磁珠悬浮液（20 μl 磁珠最高可捕获 1000 ng Total RNA），置于离心管中，将离心管置于磁分离器上 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液。

2) 磁珠平衡

再将离心管磁分离器上取下来，加入与悬浮液等体积的 Binding Buffer，混合混匀，将离心管置于磁分离器上 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液，重复洗涤 2 次，将离心管磁分离器上取下来，用 50 μl Binding Buffer 重新悬浮磁珠。

3) 磁珠结合 mRNA

将样品加入到处理好的磁珠中，用移液器小心吹打混匀 5-10 次。将离心管置于混合仪上，室温孵育 10 min。

4) 洗杂

将离心管置于磁分离器 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液。向离心管中加入 200 μl Wash Buffer，使用移液器反复吹打 5-10 次，将离心管置于磁分离器上 1 min，待溶液变澄清后，用移液器吸弃上清液。重复上述步骤 2 次。

5) 洗脱 mRNA

可以根据需要改变洗脱体积从而达到调整 mRNA 浓度的目的。建议用 10-20 μl Elution Buffer 加入到离心管中，使用移液器轻轻吹打 3-5 次，混匀，80℃ 孵育 2 min，将离心管置于磁分离器上，待溶液变澄清后，用移液器吸取并保留上清液，即为 mRNA。

4 订购信息及相关产品

名称	货号	粒径 (nm)	规格	固含量
Oligo(dT) ₂₅ 磁性聚合物微球 (Oligo(dT) ₂₅ MagPoly Beads)	MP301-1ml	1000	1 ml	5 mg/ml
	MP301-10ml	1000	10 ml	5 mg/ml
	MP301-100ml	1000	100 ml	5 mg/ml
	MP301-1000ml	1000	1000 ml	5 mg/ml