



Oligo(dT)₂₅ Magpoly Beads

目录

1. 产品介绍	1
2. 捕获流程	1
3. 注意事项	2
4. 订购信息及相关产品	2

1. 产品介绍

Oligo(dT)₂₅ 磁性微球 (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:

- 1) 粒径均一, 单分散性良好;
- 2) 非特异性吸附低, 特异性高, 提取的 mRNA 纯度高;
- 3) 超顺磁性, 磁含量高, 可确保磁珠快速分离;
- 4) 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。

表 1. Oligo(dT)₂₅ Magpoly Beads 产品性能

项目	性能
基质	聚合物磁性微球
配体	生物素化 Oligo(dT) ₂₅
磁珠粒径	1 μm
磁珠浓度	5 mg/ml
储存缓冲液	1×PBS, pH7.4, 0.05%kv300(v/v)
储存温度	2-8℃

2. 捕获流程

2.1 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	20 mM Tris 2.4228 g 1.25 M LiCl 52.9875 g 2 mM EDTA 0.5844 g 使用 HCl 溶液调节 pH 至 7.5
Wash Buffer	1 L	10 mM Tris 1.2114 g 0.15 M LiCl 6.3585 g 1 mM EDTA 0.2922 g 使用 HCl 溶液调节 pH 至 7.5
Elution Buffer	1 L	10 mM Tris 1.2114 g 1 mM EDTA 0.2922 g 使用 HCl 溶液调节 pH 至 7.5

2.2 样品准备

用 DEPC 水将 5-15 μg Total RNA 水稀释至 50 μl。可以根据 RNA 浓度调整稀释体积, 建议 50-90 μl。





2.3 mRNA 捕获

1) 磁珠准备

将 Oligo(dT)₂₅ Magpoly Beads 从 2-8℃ 冰箱取出, 颠倒平衡 5-10 min, 充分悬浮磁珠, 使用移液器吸取 20 μl 的磁珠悬浮液, 置于离心管中, 将离心管置于磁分离器上, 待溶液变澄清后, 用移液器吸弃上清液。

2) 磁珠平衡

将离心管从磁分离器上取下来, 加入 200 μl Binding Buffer, 混合混匀, 将离心管置于磁分离器上, 待溶液变澄清后, 用移液器吸弃上清液, 重复洗涤 2 次, 将离心管从磁分离器上取下来, 用 50 μl Binding Buffer 重新悬浮磁珠 (Binding Buffer 重悬体积随样品体积进行调整, 控制反应总体积在 100 μl)。

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 PCR 仪上, 65℃ 5 min, 25℃ 5 min, 4℃ 5 min。

4) 洗杂

将离心管置于磁分离器, 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, 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) 二次结合

向离心管中加入 50 μl DEPC 水, 使用移液器反复吹打 5-10 次。将离心管置于 PCR 仪上, 80℃ 2 min, 20℃ 5 min。反应结束后, 向离心管中加入 50 μl Binding Buffer, 用移液器吹打混匀 5-10 次, 室温静置 5 min。

6) 二次洗杂

将离心管置于磁分离器, 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, 待溶液变澄清后, 用移液器吸弃上清液, 确保上清液去除干净。

7) 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, 将离心管置于 PCR 仪上, 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。

3. 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。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Oligo(dT) ₂₅ Magpoly Beads	SM080001	1 ml
	SM080005	5 ml
	SM080010	10 ml
	SM080050	50 ml
	SM080100	100 ml
	SM080500	500 ml
	SM08001L	1 L

