Oligo(dT)$_{25}$ Magpoly Beads

目录

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

1. 产品介绍

Oligo(dT)$_{25}$ Magpoly Beads 是通过将生物素化 Oligo(dT)$_{25}$ 与链霉亲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，该磁珠可以直接从样本中快速提取 mRNA。

Oligo(dT)$_{25}$ Magpoly Beads 具有的优势：超顺磁性，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；磁含量高，确保磁珠快速分离；无需洗脱，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。

Oligo(dT)$_{25}$ Magpoly Beads 可从 Total RNA、培养细胞、组织等中提取 mRNA，并用作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。

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	5mg/ml
保护液缓冲液	1XPBS，0.02% NaN_3（DEPC 水配制）
储存温度	2-8℃

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、充分的震荡，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	20 mM Tris 2.4228g 1.25 M LiCl 52.9875g, 2 mM EDTA 0.5844g 使用 HCl 溶液调节 pH 至 7.5。
Wash Buffer	1 L	10 mM Tris 1.2114g 0.15 M LiCl 6.3585g, 1 mM EDTA 0.2922g 使用 HCl 溶液调节 pH 至 7.5。
Elution Buffer	1 L	10 mM Tris 1.2114g 使用 HCl 溶液调节 pH 至 7.5。

3.2 样品准备

3.2.1 Total RNA

1) 用 DEPC 水将 100~1000 ng Total RNA 稀释至 50ul。可以根据 RNA 浓度调整稀释体积，建议 20-50ul。

2）添加 50μl 的 Binding Buffer，65°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，震荡蜗旋 30s 或颠倒平衡 5 分钟，充分悬浮磁珠，使用移液器吸取适量的磁珠悬浮液（20ul 磁珠最高可捕获 1000ng 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）磁珠合结 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 200ul 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 10-20ul Elution Buffer 加入到离心管中，使用移液器轻轻吹打 3-5 次，混匀，80°C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	规格
Oligo(dT)$_{25}$ Magpoly Beads	SM080001	1 ml
	SM080005	5 ml
	SM080020	20 ml
	SM080100	100 ml