



Oligo(dT)25 磁性微球

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，可以直接从 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。

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 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 1。

表 1.mRNA 捕获所需缓冲液及配方

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

2.2 样品准备

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

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 5-10min，充分悬浮磁珠，使用移液器吸取 20µl 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

将离心管磁分离器上取下来，加入 200µl 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，将离心管磁分离器上取下来，用 50µl 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 100µl）。



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℃ 5min，25℃ 5min，4℃ 5min。

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 200μl 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 50μl DEPC 水，使用移液器反复吹打 5-10 次。将离心管置于 PCR 仪上，80℃ 2min，20℃ 5min。反应结束后，向离心管中加入 50μl Binding Buffer，用移液器吹打混匀 5-10 次，室温静置 5min。

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 200μl 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 10-20μl 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 2min，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	粒径 (nm)	固含量	规格
Oligo(dT)25 磁性微球	MP0301	1000	5mg/ml	50ml 及以上