

MagBeads Oligo (dT) 磁珠

(使用说明书 Ver.1.1.1)

产品说明

- ✧ 分离和提取多种样本中的mRNA，提取的mRNA可直接用于RT-PCR、cDNA文库构建、cDNA微阵列、亲和纯化、引物延伸和消减杂交等应用。

产品货号：

TB501-1



扫描二维码了解更多产品信息

产品规格

产品名称	产品货号	规格	保存温度	有效期
Oligo dT MagBeads	TB501-1	1 ml	2-8℃	2年

产品信息

产品名称	粒径	基质	浓度	保存液
Oligo dT MagBeads	1μm	聚合物	5 mg/mL	PBS pH 7.4, 0.05% ProClin 300

注意事项

- ❖ 冷冻、干燥和离心等操作会引起磁珠团聚，不易于重悬和分散。
- ❖ 在使用本产品前请务必充分涡旋使磁珠保持均匀的悬浮状态。
- ❖ 正常保存条件下磁珠颜色若出现稍许颜色差异，属于正常情况，不影响实验性能。
- ❖ 尽量减少RNA降解；使用RNA时，请始终佩戴手套以尽量减少RNase污染；所有用于mRNA提取的buffer和耗材都应该是RNase-free。
- ❖ 为减少磁珠损失，每次磁分离时间应不少于1 min。
- ❖ 在洗涤过程中彻底重悬磁珠/mRNA复合物，并在每一步中完全去除洗涤缓冲液，以防止LiDS和其他盐携带到下游反应中。LiDS是酶促反应的强抑制剂。
- ❖ 如果纯化后的rRNA 残留量对下游应用过高，建议使用新的磁珠对 mRNA 进行第二轮纯化。
- ❖ 本产品仅供研究使用。

产品特性

- ❖ Oligo(dT)包被的磁珠能够分离和提取多种样本中的mRNA，利用标准杂交条件，可以很容易地将聚腺苷酸化的RNA (poly-A+ RNA)结合到Oligo (dT)组上面，其他RNA种类(rRNA和tRNA)不包含poly A+序列，因此不会与Oligo(dT)磁珠结合。当有磁场存在时，这些粒子可以迅速、完全地分离。因此，分离的mRNA纯度很高，可以直接用于克隆和表达分析应用。

操作步骤:

1. 准备缓冲溶液
缓冲液配制：用户可依据自身需求，自行调整缓冲液配方（所有试剂均需使用经 DEPC 处理的水进行配制）。

溶液名称	规格
结合缓冲液	100 mM Tris-HCl,pH7.5 500 mM LiCl 10 mM EDTA,pH8 1%LiDS 5 mM dithiothreitol
洗涤缓冲液A	10 mM Tris-HCl, pH 7.5 0.15 M LiCl 1 mM EDTA 0.1% LiDS
洗涤缓冲液B	10 mM Tris-HCl, pH 7.5 0.15 M LiCl 1 mM EDTA
洗脱液	10 mM Tris-HCl pH 7.5

2. 洗涤磁珠

- 1) 重悬试剂瓶中的磁珠（摇床振荡10 min或手动摇晃至充分混匀）。
- 2) 将所需体积的磁珠转移到离心管中，加入等体积的结合缓冲液，涡旋混匀。
- 3) 将离心管置于磁力架上1 min，弃掉上清。
- 4) 将离心管从磁力架上取下，加入与初始体积相同体积的结合缓冲液，重悬磁珠。

3. 从总RNA中纯化mRNA

- 1) 将使用结合缓冲液洗涤并重悬的磁珠充分混匀后，取50 μ L至离心管中。
- 2) 样品准备：用DEPC水将10 μ g总RNA样品的体积调整至50 μ L，加入含50 μ L磁珠的离心管中，移液器轻柔混匀。
- 3) 样品置于PCR仪，65°C 5 min，25°C 5 min，4°C hold，使mRNA与磁珠结合。
- 4) 将样本置于磁力架上1-2min，待溶液澄清后吸弃上清。
- 5) 将样本从磁力架上取出，使用200 μ L 洗涤缓冲液B洗涤结合mRNA 的磁珠，移液器轻柔混匀，置于磁力架上1-2min，待溶液澄清后吸弃上清。
- 6) 将样本从磁力架上取出，加入50 μ L洗脱液，移液器轻柔混匀，将样品置于PCR仪，80°C 2 min，25°C hold，将mRNA洗脱下来。
- 7) 加入50 μ L结合液，移液器轻柔混匀，室温放置5 min。
- 8) 将样本置于磁力架上1-2min，待溶液澄清后吸弃上清。
- 9) 将样本从磁力架上取出，加入200 μ L洗涤缓冲液B，移液器轻柔混匀，将样本置于磁力架上1-2min，待溶液澄清后吸弃上清。重复此步骤1次。
- 10) 从磁力架上取下离心管，加入10 μ L DEPC水或洗脱液，重悬磁珠，在 80°C条件下孵育 2 min 进行洗脱，置于磁力架上1-2min，待溶液澄清后，小心吸取上清转移至新的Nuclease-free PCR管中。