

Oligo dT-Coated Magnetic Beads Oligo dT 磁珠

产品信息

产品名称	产品编号	规格
Oligo dT-Coated Magnetic Beads	19820ES03	1 mL
Oligo dT 磁珠	19820ES08	5 mL
	19820ES50	50 mL

产品描述

Oligo dT 磁珠为表面包被有 Oligo dT 的 1 μm 磁性聚合物微球，具有单分散和磁响应性强等特点。磁珠通过 Oligo dT 与真核生物 mRNA 的 poly A 尾结构互补配对，快速高效从总 RNA、细胞裂解物和带有 poly A 的体外转录 RNA 样本中分离纯化 mRNA。纯化的 mRNA 可用于 RT-PCR、cDNA 文库构建、RACE、探针杂交和转录组测序等应用。

产品性质

基质	聚合物磁珠
配体	Oligo dT
平均粒径	1 μm
磁核	Fe_3O_4
壳层	聚合物
磁性类型	超顺磁性
应用方向	mRNA 分离纯化
应用方式	手动/自动
dA30 结合量	>300 pmol/mg 磁珠
mRNA 结合量	~2 $\mu\text{g}/\text{mg}$ 磁珠
磁珠浓度	10 mg/mL
保存溶液	PBS, pH 7.4, 0.05% Proclin-300
保存条件	4 $^{\circ}\text{C}$
保质期	2 年

运输和保存方法

冰袋运输。4 $^{\circ}\text{C}$ 储存，有效期 2 年。

注意事项

1. 磁珠严禁冷冻，否则可能导致磁珠碎裂，影响 mRNA 纯化效果。
2. 所有用于 mRNA 提取的 buffer 和耗材都应该是 RNase-free，操作过程中应佩戴一次性手套和口罩避免 RNase 的污染。
3. 磁珠取用前应恢复至室温，且充分混匀。
4. 若总 RNA 样本降解严重，无法得到高质量的 mRNA。
5. 磁珠用量相对于样本量不可过低，否则会导致 mRNA 回收率低和 rRNA 残留过高。
6. 磁吸时间不应少于 1min，磁吸后吸弃上清液时避免损失磁珠。
7. 洗脱时可能存在磁珠残留，吸取样本时应尽量避免吸入磁珠。
8. 提取到的 mRNA 最好立即用于 RT-PCR。如果需要保存，建议将 mRNA 从磁珠上洗脱下来，可在洗脱液中添加 RNase 抑制剂，-80 $^{\circ}\text{C}$ 冻存。

实验前准备

1. 自配试剂

试剂名称	组分
结合液	20 mM Tris-HCl, pH 7.5, 1.0 M LiCl, 2 mM EDTA
洗涤液	10 mM Tris-HCl, pH 7.5, 0.15 M LiCl, 1 mM EDTA
洗脱液	Nuclease-Free Water 或 10 mM Tris-HCl, pH 7.5

注：所有试剂都使用 DEPC 水配制，为避免磁珠粘附管壁可在结合液和洗涤液中添加终浓度为 0.01% 的 Tween-20。

2. 自备设备和耗材：磁性分离架，水浴锅或金属浴，冰浴，漩涡振荡器，旋转混合仪，1.5 mL 离心管(RNase-free)，微量移液器及吸头(RNase-free)。
3. 将磁珠恢复至室温，且充分重悬。
4. 设置水浴锅或金属浴为 65°C。

操作方法

以使用 50 μ L 磁珠，从 100 μ g 总 RNA 中纯化 mRNA 为例。可以根据样本用量按比例进行调整。

1. 使用 DEPC 水将 100 μ g 总 RNA 的体积调整为 100 μ L。

注：若总 RNA 的浓度低于 1 μ g/ μ L，可增加样本体积，并调节步骤 6 的结合液用量和样本体积相同；或者直接使用 100 μ L 样本，以下步骤不变。

2. 将上述总 RNA 样本于 65°C 变性处理 5 min，立即置于冰浴。
3. 吸取 50 μ L 均匀重悬并恢复至室温的 Oligo dT 磁珠于 1.5 mL 离心管(RNase-free)，磁吸，吸弃保存液。
4. 使用 100 μ L 结合液重悬磁珠，磁吸，吸弃上清液。
5. 重复步骤 4。
6. 使用 100 μ L 结合液重悬磁珠。
7. 将步骤 2 中处理好的总 RNA 样本加入磁悬液中，混匀，室温旋转混合 10 min。
8. 磁吸，吸弃上清液。
9. 使用 200 μ L 洗涤液重悬磁珠，磁吸，吸弃上清液。
10. 重复步骤 9。

注：使用 10 μ L 移液器吸头尽量吸弃上清液。

11. 加入 20-100 μ L 洗脱液，吹打重悬磁珠，室温混匀 5min，磁吸，将纯化的 mRNA 溶液转移至新的 EP 管(RNase-free)。

注：65°C-75°C 加热洗脱，可增加洗脱效率。

检测分析

1. 总 RNA 中 mRNA 的含量一般为 1%-5%，可以使用 Nanodrop 或 Qubit 测量纯化的 mRNA 浓度。
2. 可以使用 RT-qPCR 或 Agilent 2100 Bioanalyzer 及配套的试剂检测 rRNA 残留情况。