



IVDSHOW[®] Oligo(dT)₁₈ 磁珠说明书

【产品组成】

产品名称	规格	浓度	Cat. No.	储存温度
IVDSHOW [®] Oligo(dT) ₁₈ 磁珠	1ml	5mg/ml	R-9100-01	4°C
IVDSHOW [®] Oligo(dT) ₁₈ 磁珠	5ml	5mg/ml	R-9100-02	4°C
IVDSHOW [®] Oligo(dT) ₁₈ 磁珠	10ml	5mg/ml	R-9100-03	4°C

【产品成分】 1 μ m Oligo(dT)₁₈ 磁珠分散在保存液中。

【技术支持】

艾维缔科技怀来有限公司研发部: e-mail: 1951545998@qq.com 电话: 0313-5935521。

IVDSHOW[®] 有权更改或修改产品内容, 以提高其性能和设计, 更多加微信号: hugasis。

【产品简介】

IVDSHOW[®] Oligo(dT)₁₈ 磁珠, 具有合适的 Oligo(dT)₁₈ 载量, 尺寸约为 1 μ m, 分散性好, 具有较高的磁含量, 磁响应速度快。通过磁珠表面的 Oligo dT 与 mRNA 尾部 Ploy A 之间互补配对, IVDSHOW[®] Oligo(dT)₁₈ 可以高效地从真核生物总 RNA 或直接从动植物组织、细胞中快速分离出完整、高纯度的 mRNA。提取的 mRNA 可用于分子生物学的各种下游实验中, 如 RT-PCR、cDNA 文库构建、Northern Blot 分析、引物延伸、基因表达分析等。

【产品参数】

项目	包含内容
浓度	5mg/ml
粒径	约 1.0 μ m
磁含量	约 35%~45%
保存溶液	0.02 M PBS, 含 0.1% BSA 和 0.02% 叠氮钠作为防腐剂
Oligo (dT) ₁₈ 载量	400 pmol/mg 磁珠
保存条件	密封, 2-8 °C/12 个月, 禁止冷冻, 使用前请充分混匀
包装	塑料瓶

【产品特性】

- ✓ Oligo(dT)₁₈ 的实验方案可在 30 分钟内完成, 无需其他纯化步骤。
- ✓ 磁珠修饰的 Oligo(dT)₁₈ 可在捕获 mRNA 后作为反转录成 cDNA 第一链的引物。
- ✓ 高的 poly A 特异性结合能力确保最大限度地提 mRNA。
- ✓ 1 mL 的 IVDSHOW[®] Oligo(dT)₁₈ 磁珠可以结合 10~20 μ g 来自细胞或组织的 mRNA (取决于表达水平)。
- ✓ 来自细胞的 rRNA 是远远过量的, 即使非特异性捕获效率低, 仍会有一些的 rRNA 结合, 在 Oligo(dT)₁₈ 上的 rRNA 通常会比 Oligo(dT)₂₅ 上的少。

【操作步骤】

使用缓冲溶液和材料: (所有试剂需要使用 DEPC 处理的水配制)

1. 建议缓冲液组:

- 20×柠檬酸钠缓冲液 (SSC)：3M 氯化钠，0.3M 柠檬酸钠，pH 7.0；
mRNA 杂交缓冲液：0.5x 柠檬酸钠缓冲液 (SSC)；
mRNA 洗涤缓冲液：0.2x 柠檬酸钠缓冲液 (SSC)；
2. 无 RNase 的 1.5mL 离心管；
3. 用于 1.5mL 离心管的磁力架；
4. 焦碳酸二乙酯 (DEPC) 处理的灭菌水：纯水在 37°C 下用 0.1% DEPC 处理至少 1 小时，然后加热至 100°C 15 分钟或高压灭菌 15 分钟以除去任何痕量的 DEPC；
5. 水浴锅。

清洗 IVDSHOW® Oligo(dT)₁₈ 磁珠：

1. 重悬试剂瓶中的 IVDSHOW® Oligo(dT)₁₈ 磁珠（即涡旋>30 秒，或手动摇晃至充分混匀）。
2. 将所需体积（每 100 μg 总 RNA 对应 0.5mg 磁珠）的 IVDSHOW® Oligo(dT)₁₈ 磁珠转移到离心管中，加入相同体积的杂交缓冲液，并重新悬浮。
注：杂交缓冲液在低温保存条件下可能会沉淀。如果溶液产生沉淀，使用前应将溶液在室温放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟溶解沉淀，摇匀后使用。
3. 将离心管置于磁力架上 1 分钟，弃去上清液。
注：吸弃废液时，尽量吸净管盖及管底残液，请勿吸入磁珠。
4. 从磁力架上取下离心管，并将洗过的 IVDSHOW® Oligo(dT)₁₈ 磁珠重悬在与初始体积相同体积的杂交缓冲液中，留作下一步备用。

从 100 μg 总 RNA 中纯化 mRNA：

1. 用 DEPC 处理过的灭菌水或 10mM Tris-HCl (pH7.5) 将总 RNA 样品的体积调整至 100 μL。
注：如果总 RNA 浓度比 1 μg/μL 更稀，100 μgRNA 可以添加到更多体积。在这种情况下，步骤 3 中使用的杂交缓冲液的体积增加至等于总 RNA 样品的体积。
2. 65°C 加热总 RNA 溶液 10 分钟，然后将样品转移至冰上。
3. 将 100 μL 总 RNA 溶液和 5 μL 20×SSC 缓冲液加入重悬的磁珠中，通过反复吸取混合。
4. 在室温下孵育混合物，温和振荡 10 分钟以使 mRNA 与磁珠杂交。
5. 使用磁力架收集与 mRNA 杂交的磁珠。
注：若离心管管口及管壁上粘有少量磁珠，请将磁珠重悬至离心管，可参考如下步骤：将离心管置于磁力架上，待磁珠完全吸附于管壁后，上下颠倒磁力架，使粘在管口的磁珠重悬至溶液中，避免磁珠损失。
6. 用移液枪移除上清。
注：如果需要，可以保留包含总 RNA 未结合部分的上清液，以便于之后完全提取 mRNA。
7. 使用 100 μL 洗涤缓冲液洗涤结合 mRNA 的磁珠，轻柔混匀 1-2 分钟，使用磁力架进行磁分离弃上清。
8. 重复步骤 7 两次。
注：完成最后一次清洗时务必清除所有洗涤缓冲液。
9. 从磁力架上取下离心管，加入 20-50 μL DEPC 处理的灭菌水或 10mM Tris-HCl (pH7.5)，重悬磁珠。
10. 65°C 加热 2 分钟。
11. 迅速使用磁力架收集上清，并将上清液转移至无 RNase 的离心管中。RNA 可以在 -20°C 保存一个月，在 -80°C 长期保存。

【提示】

- 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；经常换手套；使用缓冲液时，只能使用不含 RNase 的一次性枪头；如有可能，从分离的总 RNA 中进行 mRNA 提取。
- 在小容量工作时，清洗过程中完全去除所有缓冲液非常重要；
- 始终将磁珠保持在液体悬浮液中，因为干燥的磁珠会导致分离效率降低；
- 建议将提取的 mRNA 即用于 RT-PCR。如果需要储存，请加入 2.5 倍体积乙醇或等体积异丙醇并冷冻。

【常见问题】

问题原因	解决方案
RNA 降解：实验步骤中有 RNase 污染；来自总 RNA 样品的 RNA 酶污染。	<ul style="list-style-type: none"> ➢ 严格遵循实验步骤，操作迅速； ➢ 处理用于 RNA 分离的溶液和设备时，请在整个过程中佩戴手套； ➢ 检查总 RNA 样品中是否含有 RNase 污染物：通过琼脂糖凝胶电泳分析样品，RNA 酶污染可通过 18S 和 28S rRNA 带的丢失或弥散来确定； ➢ 用于 RNA 制备的任何水和盐溶液应该不含 RNase，即通过用 DEPC 处理。只要有可能，溶液应在 37℃ 下用 0.1% DEPC 处理至少 1 小时，然后加热至 100℃ 15 分钟或高压灭菌 15 分钟以除去任何痕量的 DEPC。Tris 缓冲液不能进行 DEPC 处理，因为 Tris 会使 DEPC 失活。溶液应在加入 Tris 前先进行 DEPC 处理和高压灭菌。加入 Tris 后，溶液应再次高压灭菌。DEPC 是一种可疑的致癌物质，应该小心处理。无菌一次性塑料制品基本上不含 RNase，可用于无需预处理的 RNA 制备和储存。
rRNA 污染：rRNA 和 mRNA 共纯化。	<ul style="list-style-type: none"> ➢ 确保总 RNA 样品在加入磁珠之前在 65℃ 加热； ➢ 如果 rRNA 水平对下游应用来说过高，则用新的磁珠进行第二轮纯化 mRNA。
mRNA 洗脱不下来：洗脱条件太温和。	<ul style="list-style-type: none"> ➢ 用缓冲液增加孵育时间或使用更高的洗脱温度。
磁珠聚集：磁珠被冷冻或缓冲液不合适。	<ul style="list-style-type: none"> ➢ 按照说明书中建议溶液及指示处理磁珠； ➢ 磁珠保存禁止冷冻。

【注意事项】

For Research Use Only. This product is intended to be used for research purposes only. It is not to be used for drug or diagnostic purposes nor is it intended for human use. IVDSHOW® products may not be resold, modified for resale, or used to manufacture commercial products without written approval of IVDSHOW®.