



技术手册

PolyATtract[®] mRNA 纯化系统

PolyATtract[®] mRNA Isolation Systems

Z5200, Z5210, Z5300 和 Z5310 产品使用说明

CTM021

修订时间 2013.10

www.promega.com

PolyAtract[®] mRNA 纯化系统

所有技术文献的英文原版均可在 www.promega.com/tbs 网站获得。请访问该网址以确定您所使用的技术手册是否为最新版本。如果您在使用本试剂盒的过程中有任何问题，请与 Promega 北京技术服务部联系。

电子邮件：chinatech@promega.com.cn。

1. 产品描述	2
2. 产品组分和储存条件.....	4
3. 创造无 RNase 的环境	5
4. 大量 mRNA 纯化操作方法：PolyAtract [®] 系统 I 和 II	6
A. 探针退火.....	6
B. 储液配制	6
C. 清洗链霉亲和素顺磁性颗粒	6
D. 捕获并清洗退火的 Oligo(dT)-mRNA 杂交复合物	7
E. 洗脱 mRNA.....	7
5. 小量 mRNA 纯化操作方法：PolyAtract [®] 系统 III 和 IV	8
A. 探针退火.....	8
B. 储液配制	8
C. 清洗链霉亲和素顺磁性颗粒	8
D. 捕获并清洗退火的 Oligo(dT)-mRNA 杂交复合物	9
E. 洗脱 mRNA.....	9
6. 纯化的 mRNA 的分析与处理.....	10
A. 测定 mRNA 的浓度和纯度	10
B. 下游应用中 mRNA 的沉淀和浓缩.....	12
7. 疑难解答	13
8. 参考文献	13
9 附录	14
A. 缓冲液和溶液配方	14
B. 相关产品	14

1. 产品描述

PolyATtract[®] mRNA 纯化系统使用 MagneSphere[®] 技术来避免 oligo(dT)纤维素的使用并消除由其带来的问题。该系统以总 RNA 为起始材料，在大约 45 分钟之内即可纯化得到不含其他核酸污染的 poly(A) mRNA。纯化的 mRNA 适用于各种分子生物学应用，包括体外翻译和 cDNA 合成。

在大多数真核的成熟的 mRNA 3' 端都带有一段 poly(A)区域，PolyATtract[®] mRNA 纯化系统使用生物素化的 oligo(dT)引物在溶液中与 poly(A)区域高效的杂交。杂交复合物被结合在顺磁性颗粒上的链霉亲和素捕获，通过磁力分离架分离，并经过高强度的清洗（图 1）。而后只需加入无核酸酶的去离子水即可将 mRNA 从固相化介质上洗脱下来。洗脱的过程只需经过一次磁力分离，即可得到纯化的成熟 mRNA 组分。

在完全按照说明书中的指导进行操作的情况下，试剂盒中的所有组分都保证不含核酸酶污染，并且试剂盒已经过全面测试以确保其最佳的性能。如配合 SV 总 RNA 纯化系统使用（目录号 Z3100），2 小时内即可从组织或细胞来源的样品中纯化出纯净且完整的全长 mRNA。

根据总 RNA 起始用量的不同，PolyATtract[®] mRNA 纯化系统提供两种基本的配置。PolyATtract[®] mRNA 纯化系统 I 和 II 为较大的 RNA 起始用量设计；每个系统都提供以 1-5mg 总 RNA 为起始材料，进行 3 次纯化所需的足量试剂。PolyATtract[®] mRNA 纯化系统 I 中不包含磁力分离架；PolyATtract[®] mRNA 纯化系统 II 中包含一个配合 12×75mm 管使用的磁力架。

PolyATtract[®] mRNA 纯化系统 III 和 IV 提供小量分装的 MagneSphere[®]链霉亲和素顺磁性颗粒，适用于较小的 RNA 起始用量。每个系统都提供以 ≤1mg 的总 RNA 为起始材料，进行 15 次纯化所需的足量试剂。PolyATtract[®] mRNA 纯化系统 IV 中不包含磁力分离架；PolyATtract[®] mRNA 纯化系统 III 中包含一个配合 1.5ml 离心管使用的磁力架。

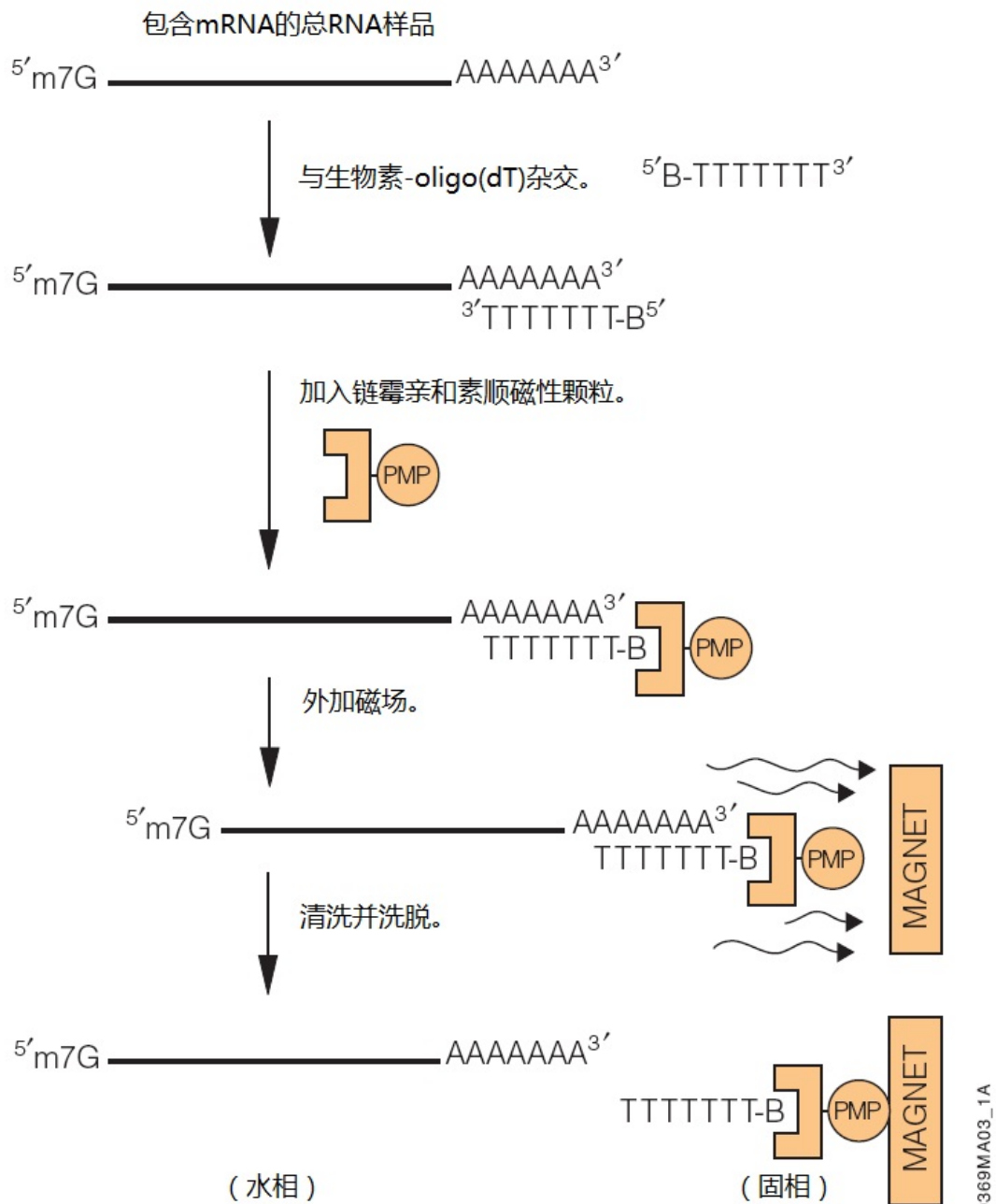


图 1. PolyATtract[®] mRNA 纯化流程示意图。

2. 产品组分和储存条件

产品名称	目录号
------	-----

PolyATtract[®] mRNA 纯化系统 I (系统 II 补充装)	Z5210
--	--------------

实验室使用。每个系统包含以 1-5mg 总 RNA 为起始材料，进行 3 次独立的 mRNA 纯化所需的全部试剂及无 RNase 的离心管（不含磁力分离架）。参见 Z5200。

产品名称	目录号
------	-----

PolyATtract[®] mRNA 纯化系统 II	Z5200
---	--------------

实验室使用。每个系统包含以 1-5mg 总 RNA 为起始材料，进行 3 次独立的 mRNA 纯化所需的全部试剂及无 RNase 的离心管。包括：

- 35 μ l 生物素化的 Oligo(dT)探针 (50pmol/ μ l)
- 4.2ml 20 \times SSC 溶液 (3 \times 1.4ml)
- 9ml 链霉亲和素 MagneSphere[®]顺磁性颗粒 (3 \times 3ml)
- 75ml 无核酸酶水 (3 \times 25ml)
- 3 个 mRNA 用管 (mRNA User Tubes)
- 1 个 配合 12 \times 75mm 管使用的 MagneSphere[®]磁力分离架 (2 个孔位)

产品名称	目录号
------	-----

PolyATtract[®] mRNA 纯化系统 III	Z5300
--	--------------

实验室使用。每个系统包含以 \leq 1mg 的总 RNA 为起始材料，进行 15 次独立的 mRNA 纯化所需的全部试剂。包括：

- 50 μ l 生物素化的 Oligo(dT)探针 (50pmol/ μ l)
- 2.8ml 20 \times SSC 溶液 (2 \times 1.4ml)
- 9ml 链霉亲和素 MagneSphere[®]顺磁性颗粒 (15 \times 0.6ml)
- 50ml 无核酸酶水 (2 \times 25ml)
- 1 个 配合 1.5ml 离心管使用的 MagneSphere[®]磁力分离架 (2 个孔位)

产品名称	目录号
------	-----

PolyATtract[®] mRNA 纯化系统 IV (系统 III 补充装)	Z5310
--	--------------

实验室使用。每个系统包含以 \leq 1mg 的总 RNA 为起始材料，进行 15 次独立的 mRNA 纯化所需的全部试剂（不含磁力分离架）。参见 Z5300。

储存条件和稳定性：除产品标签上特殊标注外，如果使用和储存方法得当，产品的质保期为自购买之日起至少六个月。4℃保存。

❗ **链霉亲和素 MagneSphere[®]磁珠不能冷冻，这会使产品的性能降低。**

3. 创造无 RNase 的环境

以下注意事项可以帮助您防止样品被核糖核酸酶（RNase）意外污染，分离得到全长的 mRNA。

1. RNase 污染的两个主要来源是用户的手和空气浮尘颗粒上可能存在细菌和霉菌。为了避免此类污染，在接触本试剂盒提供的试剂时，需要注意采取适当的微生物无菌技术。**本试剂盒提供的试剂将会被多次使用，因此在取用试剂时要格外注意避免污染。**需始终戴手套操作。
2. 在进行 RNA 操作时，尽量使用无菌的一次性塑料器具。这些材料通常不含 RNase，因此无需进行预处理使 RNase 失活。
3. 非一次性的玻璃和塑料器具在使用前需经过处理以确保其无 RNase。玻璃器具需在 200℃ 的烘箱中烘烤过夜，塑料器具在使用前需用 0.1N NaOH、1mM EDTA 溶液充分洗涤，再用无 RNase 的水充分洗净。COREX[®]管不能烘烤，需用焦碳酸二乙酯处理以确保其无 RNase。这会降低 COREX[®]管在离心过程中发生破损的几率。
4. 用户自备的溶液需用 0.05% 的焦碳酸二乙酯（DEPC）室温处理过夜，然后高压 30 分钟以去除残留的 DEPC。同样，玻璃器具也可以用 0.05% 的 DEPC 处理过夜，然后高压去除残留的 DEPC。

❗ **Tris 溶液不能直接用 DEPC 处理。DEPC 会与伯胺发生反应，在 Tris 缓冲液中会变得极不稳定。因此要用 DEPC 处理过的灭菌水来配制 Tris 缓冲液。**

注意：很多来源的双蒸水都是无 RNase 活性的。请检测您的双蒸水来源是否存在 RNase 污染。

4. 大量 mRNA 纯化操作方法：PolyAtract®系统 I 和 II

此操作流程适于从 1-5mg 总 RNA 中进行纯化。

用户需自备的材料

(9.A 部分提供了部分溶液配方。)

- 65°C 水浴或加热器
- 无菌、无 RNase 的塑料离心管
- 无菌、无 RNase 的移液器和移液器吸头

4.A. 探针退火

1. 在一个无菌、无 RNase 的 3ml 离心管中，将 1-5mg 总 RNA 和无 RNase 的水混合，至终体积 2.43ml。
2. 将离心管置于 65°C 加热器上加热 10 分钟。
3. 向 RNA 样品中加入 10 μ l 生物素化的 Oligo(dT)探针和 60 μ l 20 \times SSC。轻柔混匀，室温孵育直至完全冷却。这一过程可能需要 30 分钟，离心管规格不同，冷却所需的时间也不同。在溶液冷却的过程当中，可进行 0.5 \times 和 0.1 \times SSC 储液的配制。

4.B. 储液配制

1. 配制 5ml 0.5 \times SSC：在一个无菌、无 RNase 的离心管中将 0.125ml 20 \times SSC 与 4.875ml 无 RNase 的水混合。
2. 配制 10ml 0.1 \times SSC：在一个无菌、无 RNase 的离心管中将 50 μ l 20 \times SSC 与 9.95ml 无 RNase 的水混合。

4.C. 清洗链霉亲和素顺磁性颗粒

链霉亲和素 MagneSphere® 顺磁性颗粒 (SA-PMP) 的储存缓冲液中的牛血清白蛋白 (BSA) 可以使磁珠更加稳定，在使用前需通过清洗磁珠将 BSA 去除。SA-PMP 以 1mg/ml 的浓度储存于含有 1mg/ml BSA 和 0.02%叠氮化钠的 PBS 溶液中。在使用前需用等体积的 0.5 \times SSC 润洗三遍，并在清洗后的 **30 分钟内**使用以保证最佳的效果。使用后的磁珠不能再次清洗和反复使用。

磁珠需要充分重悬以确保最佳效果。弃去那些已“聚集”且无法分散开的磁珠。要判断

磁珠是否处于良好的状态，可将离心管颠倒数次混合，并检测 0.5-1ml 体积的磁珠在 3 分钟内是否能保持悬浮状态。如果部分磁珠在 3 分钟内沉降至管底，形成明显可见的沉淀，那么这部分磁珠就不可用了。为了避免磁珠聚集，不要冷冻磁珠或使其变干。

1. 每次纯化需重悬一管（体积为 3ml）链霉亲和素 MagneSphere[®] 顺磁性颗粒（SA-PMP），轻弹管底使磁珠完全分散，然后将管子置于磁力架上进行捕获，直至 SA-PMP 聚集到管子的一侧（大约需要 30 秒）。
2. 小心的去除上清。不要对磁珠进行离心。
3. 用 0.5×SSC（每次 1.5ml）清洗 SA-PMP 三次，每次都用磁力架进行捕获并小心去除上清。
4. 将清洗后的 SA-PMP 重悬于 0.5ml 0.5×SSC。

4.D. 捕获并清洗退火的 Oligo(dT)-mRNA 杂交复合物

1. 将退火反应（4.A 部分，第 3 步）的所有内容加入到盛有清洗过的 SA-PMP 的离心管中。
2. 室温孵育 10 分钟。每 1-2 分钟轻柔颠倒混匀一次。
3. 用磁力架捕获 SA-PMP，并小心去除上清，同时注意不要扰动磁珠。
注意：保留第 3 步的上清，直到确定得到了满意的 mRNA 结合和洗脱效果为止。
4. 用 0.1×SSC（每次 1.5ml）清洗磁珠四次，轻弹管底直至所有磁珠处于重悬状态。最后一次清洗之后，尽量将上清除净，同时注意不要扰动磁珠。

4.E. 洗脱 mRNA

1. 将最后一次清洗后的 SA-PMP（4.D 部分，第 4 步）重悬于 1.0ml 无 RNase 的水中，轻弹管壁以使磁珠重悬。
2. 用磁力架捕获磁珠，并将洗脱下来的 mRNA 转移至一个试剂盒中提供的 2ml 管（User Tubes）中。此时不要丢弃磁珠。
注意：如有少量磁珠与洗脱的 mRNA 一同转移至管中，可以通过 12,000×g 离心 1 分钟去除磁珠。小心的将 RNA 转移至一个新的无 RNase 的管中。

请参考第 6 部分，分析和处理纯化的 mRNA 的推荐流程。

5. 小量 mRNA 纯化操作方法：PolyAtract®系统 III 和 IV

此操作流程适于从 1mg 以内的总 RNA 中进行纯化。

用户需自备的材料

(9.A 部分提供了部分溶液配方。)

- 65°C 水浴或加热器
- 无菌、无 RNase 的塑料离心管，1.5ml
- 无菌、无 RNase 的移液器和移液器吸头

5.A. 探针退火

1. 在一个无菌、无 RNase 的 1.5ml 离心管中，将 0.1-1.0mg 的总 RNA 和无 RNase 的水混合，至终体积 500 μ l。

注意：可以使用更少量的总 RNA (50 μ g)，但纯化得到的 mRNA 用分光光度测定法（见第 6 部分）可能检测不到。

2. 将离心管置于 65°C 加热器上加热 10 分钟。
3. 向 RNA 样品中加入 3 μ l 生物素化的 Oligo(dT)探针和 13 μ l 20 \times SSC。轻柔混匀，室温孵育直至完全冷却。这一过程可能需要 10 分钟左右。在溶液冷却的过程当中，可进行 0.5 \times 和 0.1 \times SSC 储液的配制。

5.B. 储液配制

1. 配制 1.2ml 0.5 \times SSC：在一个无菌、无 RNase 的离心管中将 30 μ l 20 \times SSC 与 1.170ml 无 RNase 的水混合。
2. 配制 1.4ml 0.1 \times SSC：在一个无菌、无 RNase 的离心管中将 7 μ l 20 \times SSC 与 1.393ml 无 RNase 的水混合。

5.C. 清洗链霉亲和素顺磁性颗粒

链霉亲和素 MagneSphere® 顺磁性颗粒 (SA-PMP) 的储存缓冲液中的牛血清白蛋白 (BSA) 可以使磁珠更加稳定，在使用前需通过清洗磁珠将 BSA 去除。SA-PMP 以 1mg/ml 的浓度储存于含有 1mg/ml BSA 和 0.02% 叠氮化钠的 PBS 溶液中。在使用前需用等体积的 0.5 \times SSC 润洗三遍，并在清洗后的 **30 分钟内** 使用以保证最佳的效果。使用后的磁珠不能再

次清洗和反复使用。

磁珠需要充分重悬以确保最佳效果。弃去那些已“聚集”且无法分散开的磁珠。要判断磁珠是否处于良好的状态，可将离心管颠倒数次混合，并检测 0.5-1ml 体积的磁珠在 3 分钟内是否能保持悬浮状态。如果部分磁珠在 3 分钟内沉降至管底，形成明显可见的沉淀，那么这部分磁珠就不可用了。为了避免磁珠聚集，不要冷冻磁珠或使其变干。

1. 每次纯化需重悬一管（体积为 0.6ml）链霉亲和素 MagneSphere[®] 顺磁性颗粒（SA-PMP），轻弹管底使磁珠完全分散，然后将管子置于磁力架上进行捕获，直至 SA-PMP 聚集到管子的一侧（大约需要 30 秒）。
2. 小心的去除上清。不要对磁珠进行离心。
3. 用 0.5×SSC（每次 300μl）清洗 SA-PMP 三次，每次都用磁力架进行捕获并小心去除上清。
4. 将清洗后的 SA-PMP 重悬于 100μl 0.5×SSC。

5.D. 捕获并清洗退火的 Oligo(dT)-mRNA 杂交复合物

1. 将退火反应（5.A 部分，第 3 步）的所有内容加入到盛有清洗过的 SA-PMP 的离心管中。
2. 室温孵育 10 分钟。每 1-2 分钟轻柔颠倒混匀一次。
3. 用磁力架捕获 SA-PMP，并小心去除上清，同时注意不要扰动磁珠。
注意：保留第 3 步的上清，直到确定得到了满意的 mRNA 结合和洗脱效果为止。
4. 用 0.1×SSC（每次 300μl）清洗磁珠四次，轻弹管底直至所有磁珠处于重悬状态。最后一次清洗之后，尽量将上清除净，同时注意不要扰动磁珠。

5.E. 洗脱 mRNA

1. 将最后一次清洗后的 SA-PMP（5.D 部分，第 4 步）重悬于 100μl 无 RNase 的水中，轻弹管壁以使磁珠重悬。
2. 用磁力架捕获磁珠，并将洗脱下来的 mRNA 转移至一个无菌、无 RNase 的离心管中。此时不要丢弃磁珠。
3. 用 150μl 无 RNase 的水重悬 SA-PMP 重复洗脱步骤。重复捕获步骤，将两次洗脱下来的 RNA 合并到一起（总体积 250μl）。

注意：如有少量磁珠与洗脱的 mRNA 一同转移至管中，可以通过 12,000×g 离心 1 分

钟去除磁珠。小心的将 RNA 转移至一个新的无 RNase 的管中。

请参考第 6 部分，分析和处理纯化的 mRNA 的推荐流程。

6. 纯化的 mRNA 的分析与处理

6.A. 测定 mRNA 的浓度和纯度

洗脱的 mRNA 的浓度和纯度可以通过分光光度法测定。纯的 mRNA 的 A_{260}/A_{280} 吸光度比值 ≥ 2.0 。mRNA 的浓度可按照 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 的 mRNA 溶液在 260nm 处的吸光度为 1 来估算。通常，mRNA 占总 RNA 的 1-5% (1)。

体积小于等于 1ml 的样品可以用半微量比色杯或微量比色杯检测。微量矮型比色皿（高度 25mm）可以用来检测 300-400 μl 样品的吸光度，50-300 μl 样品的吸光度可以使用 UV 微孔板和光径校正值在 96 孔 UV 分光光度计上检测。比色皿中可检测的最小样品体积取决于仪器光束的位置。参考用户手册，或与生产厂商联系以获取该信息。光径较短的比色皿可以用来测量较小体积的样品，但根据比尔定律 $[\epsilon (\text{摩尔吸光系数}) \times \text{光径} \times \text{浓度}]$ ，较短的光径需要更高的 mRNA 浓度以给出有意义的吸光值。比色皿标准的光径是 1cm。用户需要确定这些比色皿与所使用的分光光度计是否兼容。透明壁的微量比色皿信噪比较低，因此选择黑壁的比色皿更好。比色皿的窗口材料应为可用波长小于 200nm 的抛光石英（例如 Starna[®] 光谱纯远紫外石英）。除了一些特定的产品，通常聚苯乙烯和丙烯酸类材质的比色皿不适合用来进行 230-280nm 波长范围内的检测。

注意：请确定比色皿为无 RNase 的，这样用分光光度计检测后样品可以回收使用。处理方法可用 50mM 的 NaOH 清洗比色皿然后用无 RNase 的灭菌水冲洗。

分离得到的 mRNA 的质量也可以通过变性琼脂糖凝胶电泳检测 (1)，但当从 $< 1\text{mg}$ 总 RNA 中分离 mRNA 时，这可能需要将所有样品都用来进行电泳。电泳胶可以保存并用于 Northern 杂交。图 2 中的 A 图展示了用 PolyAtract[®] 系统从小鼠肝脏总 RNA 中纯化的 mRNA 组分的电泳图。mRNA 在大约从 8.0kb 到 0.5kb（取决于组织类型）处呈现弥散的状态。大量的 mRNA 应该聚集在 2.0kb 附近。

通常在第一轮分离之后会有极少的核糖体污染。然而，少量核糖体条带的存在并不意味着试剂盒的性能不佳。图 2 中的 B 图显示的是 mRNA 的 Northern 杂交结果，该 mRNA 样品中含可见的 28S 和 18S 核糖体 RNA。印迹膜用 ^{32}P 标记的生物素化 oligo(dT) 进行杂交。总 RNA 泳道没有或仅有很少杂交，而尽管有部分核糖体 RNA 的存在，分离的 mRNA 样品

泳道可见有大量的 mRNA 富集。因此，在大多数应用中，少量的核糖体污染并不会影响 mRNA 的功能。

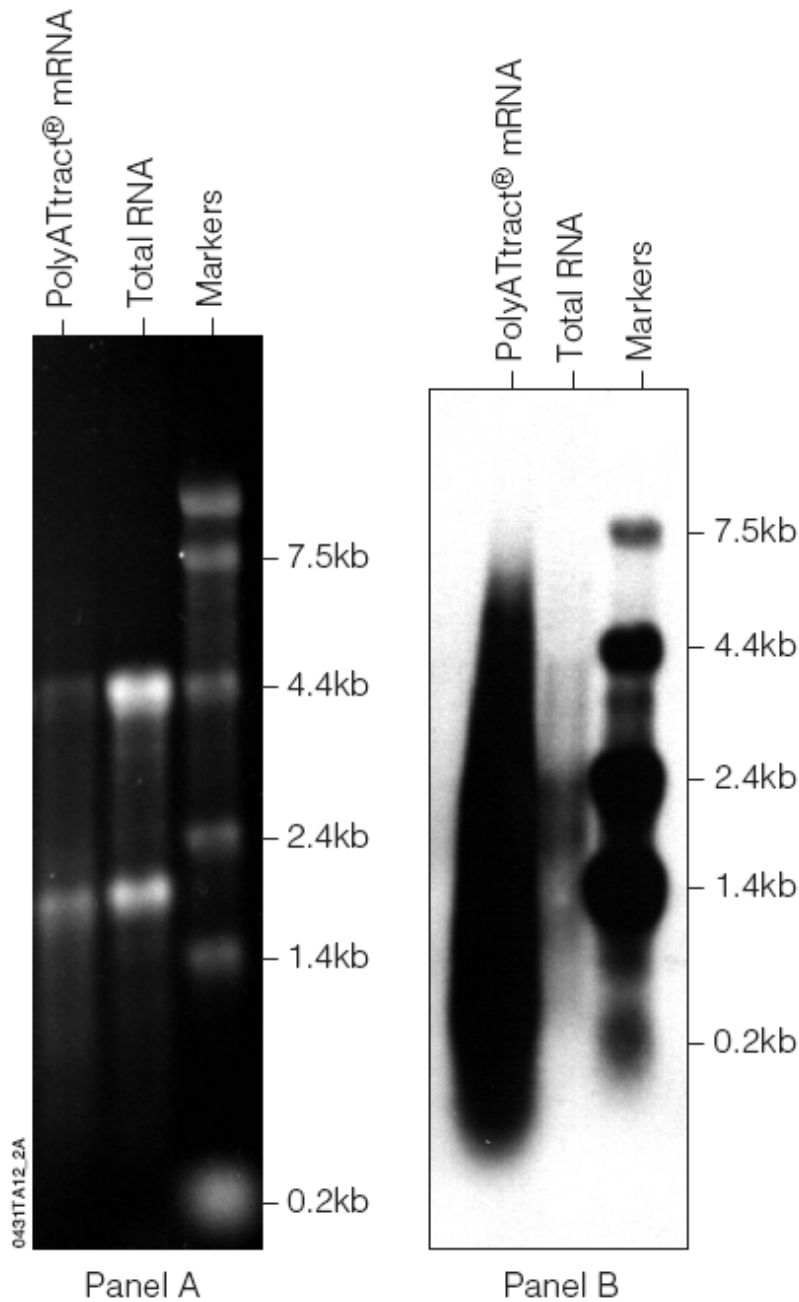


图 2. 使用 PolyAtract® mRNA 纯化系统纯化的 mRNA 样品的 Northern 杂交结果。图 A. 1% 变性琼脂糖胶上 RNA 样品（每泳道 5 μ g）的溴化乙锭染色结果。第 1 道，mRNA 组分；第 2 道，小鼠肝脏总 RNA；第 3 道，0.24-7.5kb RNA 分子量标准品。图 B. 图 A 中的 RNA 样品转印到硝化纤维素膜上，并用 32 P 标记的生物素化 oligo(dT) 在 50 $^{\circ}$ C，含有 1 \times Denhardt's 溶液和 0.1%SDS 的 6 \times SSC 中进行杂交。

6.B. 下游应用中 mRNA 的沉淀和浓缩

尽管使用 PolyAtract[®] 系统纯化得到的 mRNA 组分的浓度足以满足分光光度分析的需要,但是对于其它例如 cDNA 克隆和体外翻译等应用,这一浓度则太低了。如果从大于 **0.5mg** 的总 RNA 中进行 mRNA 的纯化,那么得到的 mRNA 可以用醇沉淀法进行浓缩 (2):

1. **用于 cDNA 克隆:** 向 mRNA 洗脱物中加入 0.1 倍体积的 3M 醋酸钠 (pH5.2) 和 1.0 倍体积的异丙醇,然后-20℃孵育过夜。

用于体外翻译: 向 mRNA 洗脱物中加入 0.1 倍体积的 3M 醋酸钾或醋酸铵和 1.0 倍体积的异丙醇,然后-20℃孵育过夜。

2. $>12,000\times g$ 离心 10 分钟。将 RNA 沉淀重悬于 1ml 75%的乙醇,再次离心。

3. **短期保存:** 在真空干燥器上干燥沉淀约 15 分钟,以 0.5-1.0 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ 的浓度重悬至无 RNase 的去离子水中,并储存于-70℃。

长期保存: 将溶于醋酸钠/异丙醇溶液中的 RNA 样品储存于-70℃,并于使用之前进行离心浓缩。

当总 RNA 起始量少于 0.5mg 时, mRNA 的理论产量会比较低,上述沉淀方法将无法有效回收样品。对于低产量的样品,可将 mRNA 洗脱物-20℃冷冻 10 分钟,然后用 Speed Vac[®] (真空离心浓缩技术) 干燥。这大约需要 2.5 小时。样品可以以标称体积再水化用于 cDNA 克隆或体外翻译。我们曾用从 100 μg 总 RNA 中分离得到的 mRNA 来构建 cDNA 文库。

7. 疑难解答

如果您的问题在此没有列出，请与当地的 Promega 分公司或经销商联系。联系方式请参见 www.promega.com.cn。电子邮件：chinatech@promega.com.cn

问题	可能的原因和解释
无 mRNA 洗出	退火步骤中未含盐离子导致 mRNA 不结合。重复退火步骤，加入 20×SSC（至终浓度 0.5×）。 探针捕获和清洗前，退火反应物未充分冷却。将保留的上清按照 4.D 和 5.D 部分第一步的方法重新加回到磁珠中，并继续后续操作。 洗脱前未除净盐类成分。用去离子水再次清洗最终的 SA-PMP 磁珠，并测量该洗脱物的 A ₂₆₀ 吸光值。 总 RNA 中含有 RNase 污染。用凝胶电泳检测总 RNA 的质量，必要时重新进行总 RNA 的纯化。
凝胶显示 RNA 降解	mRNA 纯化过程中存在 RNase 污染。重复整个纯化过程。重读并注意第 3 部分各事项。
产量低	清洗强度高。重复退火步骤，加入 20×SSC（至终浓度 1.0×），最后的清洗步骤用 0.2×SSC 进行。

8. 参考文献

1. Sambrook, J. and Russell, D. (2001) *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY.
2. Wallace, D.M. (1987) Precipitation of nucleic acids. *Meth. Enzymol.* **152**, 41–8.

其它参考文献

1. Barron, D. (1998) Technically Speaking: Streptavidin MagneSphere[®] paramagnetic Particles. *Promega Notes* **66**, 17–8.
2. Marcus, L. *et al.* (1996) PolyATtract[®] Systems for mRNA purification. *Promega Notes* **60**, 14–8.
3. Burke, P. (1996) Technically Speaking: PolyATtract[®] mRNA Isolation Systems. *Promega*

9 附录

9.A. 缓冲液和溶液配方

使用试剂盒中提供的缓冲液时，试剂盒的性能是有保证的。如用户希望使用自己配制的缓冲液，需要特别注意使用的所有试剂和器具都是无RNase的（参见第3部分）。

20×SSC

88.7g NaCl

44.1g 柠檬酸钠¹

溶于 400ml 无核酸酶的水。用 HCl 调 pH 至 7.2，并用水将体积补齐至 500ml。分装。高压灭菌。

¹三钠盐二水合物

3M 醋酸钠 (pH 5.2)

408.1g 醋酸钠·3H₂O

将醋酸钠溶于 800ml 水。用冰醋酸调 pH 至 5.2。用水定容至 1L。高压灭菌。

9.B. 相关产品

请参考完整版英文说明书 [TM021](#)。

(<http://www.promega.com/~media/Files/Resources/Protocols/Technical%20Manuals/0/PolyATtract%20mRNA%20Isolation%20Systems%20Protocol.pdf>)