

Nucleic Acid Capture



Ce protocole est un protocole abrégé. Avant d'utiliser ce produit pour la première fois, il est recommandé de lire attentivement la notice.

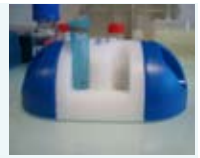
Produits

- Bio-Adembeads Streptavidin
- ou MasterBeads Streptavidin
- SSC Buffer 20X
- Sonde oligonucléotidique biotinylée



Matériel

- Support Magnétique
- Microtubes



1-Préparation des particules magnétiques

- Mettre **20µl** de **Bio-Adembeads Streptavidin (100µg)** dans un microtube de 1.5 ml
- Aimanter les particules magnétiques jusqu'à ce que le surnageant soit clair et jeter le surnageant
- Resuspendre les particules magnétiques avec **100µl de tampon SSC 5X**
- Aimanter les particules magnétiques jusqu'à ce que le surnageant soit clair et jeter le surnageant
- Resuspendre les particules magnétiques avec **50µl de tampon SSC 5X (solution 1)**

2- Formation complexe : acide nucléique et sonde oligonucléotidique biotinylée

- Diluer jusqu'à **1µg d'acides nucléiques cibles** dans **50µl de tampon SSC 5X**
- Ajouter **25µl de la sonde biotinylée** (20pmol dilués dans 25µl de tampon SSC 5X)
- Chauffer **15 min à 95°C, 1 min à 64°C, 1 min à 50°C, et 1 min à 37°C**
- Formation du complexe (**solution n°2**)

3- Capture du complexe: acide nucléique et sonde oligonucléotidique

- Ajouter les **particules magnétiques (solution 1)** au **complexe d'hybridation (solution 2)** et mélanger en pipetant
- Incuber **10min à TA**
- Aimanter les particules magnétiques jusqu'à ce que le surnageant soit clair et jeter le surnageant et resuspendre les particules magnétiques avec **100µl de tampon SSC 0.1X**. Mélanger en pipetant
- Répéter cette étape deux fois

4- Elution de l'acide nucléique

- **Resuspendre** les particules magnétiques avec **50µl d'eau nucléase free** (volume à ajuster) et mélanger en pipetant
- Incuber **5 min à 50°C**
- Aimanter les particules magnétiques jusqu'à ce que le surnageant soit clair
- Récupérer le surnageant (qui contient acides nucléiques cibles) dans un nouveau microtube

Mode Opérateur