



PCR 产物纯化回收试剂盒(磁珠法)

产品信息:

试剂盒组成	保存	CZ102-01	CZ102-02
		100 次	200 次
结合液 BB	室温	60ml	100ml
漂洗液 WB	室温	25ml	25ml×2
		第一次使用前加入 100ml 无水乙醇	
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml	10ml×2
Magbead 磁珠	室温	5ml	5ml×2

保存条件: 本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

产品介绍:

本试剂盒可将 PCR 产物中溶解的 DNA 片段特异性地吸附到硅基化磁珠表面, 在磁场的作用下, 携带 DNA 的磁珠向磁铁方向进行定向移动和聚集, 与其他剩余杂质完全分开。再通过一系列快速的漂洗吸附步骤, 去蛋白液和漂洗液将引物、核苷酸、蛋白、酶等杂质去除, 最后低盐、高 pH 值的洗脱缓冲液将纯净 DNA 从磁珠上洗脱。

产品特点:

- 1.磁珠之间吸附量差异极小, 可重复性好。
- 2.使用了优质结合液, 不含传统结合液的碘化钠和高氯酸盐, 不抑制回收后酶切、连接克隆等下游反应。
- 3.结合液为黄颜色, 便于监测 pH 值变化从而达到最佳结合效果, 大大提高回收效率。
- 4.快速、方便, 不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂, 也不需要乙醇沉淀。

注意事项:

- 1.所有的溶液应该是澄清的, 如果环境温度低时溶液可能形成沉淀, 此时不应该直接使用, 可在 37℃ 水浴加热几分钟, 即可恢复澄清。使用前应该恢复到室温
- 2.避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。
- 3.结合液中含有刺激性化合物, 操作时要戴乳胶手套, **避免沾染皮肤, 眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 要立即用大量清水或者生理盐水冲洗。**
- 4.回收纯化的 DNA 片段一般在 100bp 到 40kb 之间, 过长、过短片段的回收效率迅速降低。
- 5.回收 DNA 的量和起始 DNA 的量, 洗脱体积, DNA 片断大小有关。一般 1-20 μ g, 100bp-5kb 的 DNA 片段, 回收率可达 95%。
- 6.pH 值 \leq 7.5 时, 磁珠吸附 DNA 的效率最高。如果待纯化产物含有碱性物质过多, 造成和结合液混和后 pH 偏高, 会导致回收率降低。混和后, 如果结合液依旧保持黄色, 说明 pH 正常; 如果变成橘红色或者淡紫色, 说明 pH 偏高, 可加 5-10 μ l 3M 醋酸钠 (pH 5.2) 将 pH 值调到 5-7 (黄色)。
- 7.洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA, 不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱, **但应该确保 pH 大于 7.5**, pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱, DNA 片段应该保存在 -20℃。DNA 片段如果需要长期保存, 可以用 TE 缓冲液洗脱 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0), 但是 EDTA 可能影响下游酶切反应, 使用时可以适当稀释。

自备仪器及试剂:

- 1.小型离心机
- 2.磁力架(博迈德)
- 3.无水乙醇

操作步骤:

提示: 第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇, 加入后请及时打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入!

1. 每 100 μ l PCR 扩增后体系或者酶切后体系加入 500 μ l 结合液 BB, 充分混匀。(如果初始体系小于 100 μ l, 请事先用双蒸水调整至 100 μ l)。
2. 将上一步所得上清加入新的 1.5ml 离心管, 再加入 50 μ l 的磁珠悬浮液, 震荡混匀, 放置 5 min, (如需高产量, 可放置 10 min) 期间混匀几次。
3. 把离心管放到磁力架上, 静置 30 sec, 磁珠自动被吸附在管壁, 吸弃上清, 磁珠分离要在磁力架上完成。
4. 加入 500 μ l 漂洗液 WB (**请先检查是否已加入无水乙醇!**), 颠倒混匀, 放到磁力架上, 静置 30 sec, 吸弃上清, 磁珠分离要在磁力架上完成。
5. 重复操作步骤 4。
6. 吸净液体, 室温放置 5 min, 确保乙醇挥发干净, 加 50 μ l 洗脱缓冲液 EB, 轻轻敲打使磁珠完全悬浮于洗脱后, 室温静置 1 min。
7. 把离心管放到磁力架上, 静置 30 sec, 磁珠自动被吸附在管壁, 将洗脱液转移到洁净的离心管中, -20℃ 保存备用。