

## 磁珠法 DNA 纯化回收试剂盒

项目号: M666134

储存条件: 2-8°C。

产品内容:

Component	M666134	M666134
	5ml	50ml
CMPure	5ml	50ml

### 产品简介

本试剂盒提供了一种简单、快速、高效的核酸纯化方法。该产品可用于二代测序建库时 DNA 的选择性或非选择性回收, 以及 PCR 产物的纯化回收。CMPure 与样品按一定比例混合后, 磁珠选择性将核酸吸附。经两步漂洗后, 洗脱得到的 DNA 纯度高, A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> 的比值在 1.7-1.9 之间, A<sub>260</sub>/A<sub>230</sub> 的比值通常在 2.0 以上。经该试剂盒纯化得到的 DNA 适用于 PCR, Real-TimePCR, 测序, southernblotting 等实验。

### 试剂盒说明

Sampletype	Typicalyield	Sampletype	Typicalyield
5000bpsegment	Upto90%	1000bpsegment	Upto90%
500bpsegment	Upto80%	200bpsegment	Upto70%

### 自备仪器、试剂

1. 磁力架
2. 80%乙醇。
3. 洗脱液: BufferEB (10mMTris-HCl, pH8.0); 去离子水 (pH 在 7.0-8.0 之间)。

### 实验前准备及重要注意事项

1. 冰冻、离心、超声会对 CMPure 中的磁珠造成不可逆的损害。
2. CMPure 中磁珠长期放置后会聚集成团, 从而使磁珠表面积减小, 降低样品回收得率, 使用前一定要涡旋振荡彻底混匀磁珠。
3. 使用前, 建议将 CMPure 涡旋震荡混匀后分装到 1.5ml 的离心管中, 每管分装 1mlCMPure。
4. 本试剂盒不适用于纯化回收小于 100bp 的 DNA 片段, 如果要回收小于 100bp 的 DNA 片段, 建议将 CMPure 的用量增加到样品体积的 4 倍。
5. 进行 DNA 的选择性回收时, CMPure 对于 DNA 溶液中的离子浓度较为敏感。不同厂家的二代测序建库试剂盒得到的接头连接后的 DNA 溶液以及 PCR 扩增产物中离子浓度不同, 所以用 CMPure 做 DNA 选择性回收时, 试剂用量有所不同。

### 操作步骤

1. 涡旋振荡 CMPure 20 秒, 使其彻底混匀为均一溶液。
2. 向 1.5ml 的离心管中加入纯化的 DNA 溶液。
3. 向上一步的离心管中加入 2 倍样品体积的 CMPure, 涡旋震荡 5 秒后室温静置 5 分钟。
4. 将上一步的离心管放于磁力架上, 直至磁珠完全吸附 (约需 5 分钟)。
5. 保持离心管固定于磁力架上, 彻底弃去溶液, 期间避免接触磁珠。
6. 继续保持离心管固定于磁力架上, 向离心管中加入 250μl 新鲜配置的 80%乙醇。7. 保

持离心管固定于磁力架上，待悬起的磁珠完全吸附后彻底弃去乙醇。

8. 重复步骤 6-7 两次。

9. 保持离心管固定于磁力架上静置放置 10 分钟，使乙醇完全挥发干净。

10. 将离心管从磁力架上取下，加入 20-100 $\mu$ l EB（自备）或去离子水，涡旋振荡使磁珠完全重悬于洗脱液中后，室温放置 5 分钟。

11. 将离心管放于磁力架上直至磁珠完全吸附（约需 5 分钟）。

12. 将洗脱液转移至一个新的 1.5ml 离心管中。此时，可弃去磁珠。

### 纯化回收得率的计算

我们建议通过琼脂糖电泳纯化前后的样品进行回收得率的计算。我们不建议通过 260nm 处的光吸收值来计算回收得率。因为溶液中单链、双链 DNA 和 dNTP 以及一些纯化前的某些杂质在 260nm 处都有光吸收，这样在计算回收前样品中 DNA 浓度时会得到一个假的、虚高的 DNA 浓度。