



# 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	50ml	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°C 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 $\mu$ 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 $\mu$ l 3M醋酸钠（pH5.2）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 $^{\circ}$ C。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. 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 $\mu$ l PCR 扩增后体系或者酶切后体系加入 500 $\mu$ l 结合液 BB，充分混匀。（如果初始体系小于 100 $\mu$ l，请事先用双蒸水调整至 100 $\mu$ l）。
2. 将上一步所得上清加入新的 1.5ml 离心管，再加入 50ul 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 $\mu$ 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 $\mu$ l 洗脱缓冲液 EB，轻轻吹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 $^{\circ}$ C 保存备用。

BM20211216