

MagPure cDNA Clean Up Kit

简介

MagPure cDNA Clean Up Kit 为 cDNA 产物，酶促反应物的 DNA 片段回收纯化提供一条快速的解决方案。试剂盒采用均一的弱离子交换磁珠纯化技术，适合于从 cDNA 产物、限制性内切酶切体系、或其它酶促反应液中回收 50bp-20Kbp DNA 片段。

试剂盒组成

| 编号 | BCC-5 | BCC-50 | BCC-500 |
|-------------|-------|--------|---------|
| CD Solution | 5 ml | 50 ml | 500 ml |

保存条件

收到该试剂后请于 2-8°C 保存。该试剂可以在 2-8°C 保存 1 年。

准备工作

- 80%乙醇
- 0.5ml 96 孔板
- 8 通道移液枪
- 磁力架
- (自动化方案) 96 通道移液工作站

操作流程

● 96 孔操作流程

1. 把 96 孔 cDNA 产物放置于工作台上，测量产物的体积。若 PCR 产物 > 50 μ l 时，则需要转移至 0.3-0.5ml 的 96 孔板中；若 PCR 产物 < 50 μ l 时，可不需转移 PCR 产物，可直接在 PCR 反应板中进行操作；
2. 取出 CD Solution，振荡使磁珠充分重悬。
3. 按下表把 CD Solution 和无水乙醇添加至 cDNA 产物中。

| cDNA 体积 | CD Solution | 无水乙醇 |
|-------------|-------------|-------------|
| 20 μ l | 20 μ l | 60 μ l |
| 50 μ l | 50 μ l | 150 μ l |
| 100 μ l | 100 μ l | 300 μ l |

4. 用移液枪吸打混匀 15 次，或在 IKA MS3 涡旋仪上，600-1000rpm 振荡混匀 3 分钟，室温静置 10 分钟。
5. 把 96 孔板转移至 96 孔磁力架上，静置 10 分钟富集磁珠。小心吸弃上清液；
6. 每孔加 200 μ l 80%乙醇，在 IKA MS3 涡旋仪上，600-1000rpm 振荡混匀 1 分钟，把 96 孔板转移至 96 孔磁力架上，静置 2 分钟富集磁珠。小心吸弃上清液；
7. 每孔加 200 μ l 80%乙醇，在 IKA MS3 涡旋仪上，600-1000rpm 振荡混匀 1 分钟，把 96 孔板转移至 96 孔磁力架上，静置 2 分钟富集磁珠。小心吸弃上清液；
8. 彻底吸尽残液。空气干燥 10 分钟。
9. 从磁力架上取下 96 孔板中。加入 20 μ l 灭菌水(pH7.0-8.0)至每一个孔中。吸打 15 次，或在 IKA MS3 涡旋仪上，1000-1500rpm 振荡 2 分钟充分重悬磁珠。室温静置 3 分钟。
10. 转移至磁力架上静置 3-5 分钟富集磁珠。
11. 把 DNA 转移至新的 96 孔板中。

● 单管操作

1. 把 cDNA 产物放置于工作台面上，测量产物的体积。
2. 转移至 1.5ml 离心管中。
3. 取出 CD Solution，振荡使磁珠充分重悬。
4. 按下表把 CD Solution 和无水乙醇添加至 cDNA 产物中。

| cDNA 体积 | CD Solution | 无水乙醇 |
|-------------|-------------|-------------|
| 20 μ l | 20 μ l | 60 μ l |
| 50 μ l | 50 μ l | 150 μ l |
| 100 μ l | 100 μ l | 300 μ l |

5. 涡旋混匀 20 秒，室温静置 10 分钟，其间颠倒混匀数次。
6. 转移至磁力架上，静置 5-10 分钟富集磁珠。小心吸弃上清液；
7. 加 500 μ l 80%乙醇，涡旋混匀 15 秒。转移至磁力架上，静置 2~3 分钟富集磁珠。小心吸弃上清液；
8. 加 500 μ l 80%乙醇，涡旋混匀 15 秒。转移至磁力架上，静置 2~3 分钟富集磁珠。小心吸弃上清液；
9. 短暂离心，吸尽残液。空气干燥 5~10 分钟。
10. 从磁力架上取下 96 孔板中，加入 20~50 μ l 灭菌水 (pH7.0-8.0)至每一个孔中。涡旋混匀 15 秒，室温静置 5 分钟。
11. 转移至磁力架上静置 3-5 分钟富集磁珠。把 DNA 转移至新的 96 孔板中。

常见问题及解答

● 回收效率不高

1. 影响回收效率的第一因素：洗脱不充分。洗脱液的 pH 必须是 7.0-8.0。酸性的洗脱液会降低洗脱效率。此外洗脱时，磁珠没有充分重悬。
2. 影响回收效率的第二因素：过分干燥。过分干燥会影响洗脱效率。
3. 影响回收效率的第三因素：CD Solution 使用前没有充分混匀。
4. 影响回收效率的第四因素：操作过程中磁珠有丢失。延长磁珠富集时间。在第一次富集期间用移液枪轻轻 2-3 次提高富集效果。

● 引物污染

磁珠洗涤不充分。用 80%乙醇多洗涤一次。