

MagPure EXP Kit

简介

MagPure EXP Kit 为短片段 DNA (50~500bp) 窄幅选择性分选回收纯化提供一条快速的解决方案。试剂盒采用磁珠纯化技术, 适合于从 DNA 产物、限制性内切酶切体系、或其它酶促反应液中选择回收 50bp-150bp DNA, 50-200bp, 50-250bp 或 50-300bp 的短 DNA 片段。

试剂盒组成

编号	EXP-5	EXP-50	EXP-500
Buffer EXP	5 ml	50 ml	500 ml
磁珠 MPG2	0.4 ml	4.0 ml	40 ml

保存条件: 本产品室温运输和保存, 有效期为 18 个月。

准备工作

- 80%乙醇
- **配制大片段结合液 EXP-G (例 5ml):** 350 μ l 磁珠液 G2, 3650 μ l Buffer EXP, 颠倒混匀, 备用, 该混合液可以室温保存 1 个月。

A. 一步法纯化流程(去除短片段 DNA)

1. 转移 PCR 产物或酶促反应液至 1.5ml 离心管中。
2. 按下表加入结合液 EXP-G 至 DNA 产物中, 混匀, 室温静置 5 分钟。磁力架静置 1 分钟收集磁珠, 小心吸弃上清液。

EXP-G 加入量 (按样品体积计算)	吸附的片段
0.5 倍 EXP-G	\geq 2000bp
0.6 倍 EXP-G	\geq 750bp
0.7 倍 EXP-G	\geq 500bp
0.8 倍 EXP-G	\geq 400bp
0.9 倍 EXP-G	\geq 300bp
1.0 倍 EXP-G	\geq 250bp
1.1 倍 EXP-G	\geq 200bp
1.2 倍 EXP-G	\geq 150bp
1.5-1.8 倍 EXP-G	\geq 100bp
1.0 倍 EXP-G 和 1.0 倍异丙醇	\geq 50bp

3. 加入 500 μ l 80%乙醇混匀, 磁力架静置 1 分钟, 吸弃上清液。
4. 重复第 3 步两次。
5. 瞬离吸弃残液, 空气干燥 10 分钟。
6. 从磁力架上取下样品中, 加入 30~50 μ l Buffer TE 或 Low TE 至每一个孔中, 涡旋重悬磁珠, 室温静置 3 分钟。
7. 转移至磁力架上静置 1 分钟富集磁珠, 把 DNA 转移至新的离心管中。

B. 两步法纯化流程 (分选含 100bp 的中间片段)

1. 转移 PCR 产物或酶促反应液至 1.5ml 离心管中。
2. 去除大片段 DNA: 按下表加入 Buffer EXP-G 至 DNA 产物中, 混匀, 室温静置 5 分钟, 瞬离后磁力架上静置 1 分钟, 转移上清液至新的离心管中。

Buffer EXP-G 加入量	例: 100 μ l DNA 产物	去除片段
0.6 倍样品体积	60 μ l Buffer EXP-G	\geq 1000bp
0.7 倍样品体积	70 μ l Buffer EXP-G	\geq 750bp
0.8 倍样品体积	80 μ l Buffer EXP-G	\geq 500bp
0.9 倍样品体积	90 μ l Buffer EXP-G	\geq 400bp
1.0 倍样品体积	100 μ l Buffer EXP-G	\geq 300bp
1.1 倍样品体积	110 μ l Buffer EXP-G	\geq 250bp
1.2 倍样品体积	120 μ l Buffer EXP-G	\geq 200bp

3. 回收中间片段: 按下表加入适量的 Buffer EXP-G 至上清液中, 混匀, 室温静置 5 分钟。瞬离后磁力架静置 1 分钟富集磁珠, 吸弃所有溶液。

需回收 DNA	例: 100 μ l DNA 产物			
	Buffer EXP-G			DNA 产物
	总加量	第一次	第二次	
\geq 100bp	180 μ l	60 μ l	120 μ l	100~750bp
		70 μ l	110 μ l	100~400bp
		80 μ l	100 μ l	100~300bp
		90 μ l	90 μ l	100~250bp
		100 μ l	80 μ l	100~200bp
		110 μ l	70 μ l	100~150bp
		120 μ l	60 μ l	100~150bp

4. 加入 500 μ l 80%乙醇, 涡旋磁力架静置 1 分钟, 吸弃上清液。
5. 重复第 4 步两次。
6. 瞬离收集残液, 吸尽全部残液, 空气干燥 5~10 分钟。
7. 从磁力架上取下样品中, 加入 30~50 μ l Buffer TE 或 Low TE 至每一个孔中, 涡旋重悬磁珠, 室温静置 3 分钟。转移至磁力架上静置 1 分钟富集磁珠, 把 DNA 转移至新的离心管中。

C. 两步法纯化流程 (分选含 50bp 的中间片段)

1. 转移 PCR 产物或酶促反应液至 1.5ml 离心管中。
2. 去除大片段 DNA: 按下表加入 Buffer EXP-G 至 DNA 产物中, 混匀, 室温静置 5 分钟, 瞬离后磁力架上静置 1 分钟, 转移上清液至新的离心管中。

Buffer EXP-G 加入量	例: 100 μ l DNA 产物	去除片段
0.7 倍样品体积	70 μ l Buffer EXP-G	\geq 750bp
0.8 倍样品体积	80 μ l Buffer EXP-G	\geq 500bp
0.9 倍样品体积	90 μ l Buffer EXP-G	\geq 400bp
1.0 倍样品体积	100 μ l Buffer EXP-G	\geq 300bp
1.1 倍样品体积	110 μ l Buffer EXP-G	\geq 250bp
1.2 倍样品体积	120 μ l Buffer EXP-G	\geq 200bp
1.3 倍样品体积	130 μ l Buffer EXP-G	>150bp
1.4 倍样品体积	140 μ l Buffer EXP-G	\geq 150bp

3. 回收中间片段: 按下表加入等倍样品体积 Buffer EXP-G 和异丙醇上清液, 混匀, 室温静置 5 分钟。瞬离后磁力架静置 1 分钟收集磁珠, 吸弃所有溶液。

需回收 DNA	例: 100 μ l DNA 产物			
	Buffer EXP-G		异丙醇	DNA 产物
	第一次	第二次		
\geq 50bp	70 μ l	100 μ l	100 μ l	50~750bp
	80 μ l	100 μ l	100 μ l	50~500bp
	90 μ l	100 μ l	100 μ l	50~400bp
	100 μ l	100 μ l	100 μ l	50~300bp
	110 μ l	100 μ l	100 μ l	50~250bp
	120 μ l	100 μ l	100 μ l	50~200bp
	130 μ l	100 μ l	100 μ l	50~150bp
	140 μ l	100 μ l	100 μ l	50~140bp

4. 加入 500 μ l 80%乙醇, 涡旋磁力架静置 1 分钟, 吸弃上清液。
5. 重复第 4 步两次。
6. 瞬离收集残液, 吸尽全部残液, 空气干燥 5~10 分钟。
7. 从磁力架上取下样品中, 加入 30~50 μ l Buffer TE 或 Low TE 至每一个孔中, 涡旋重悬磁珠, 室温静置 3 分钟。转移至磁力架上静置 1 分钟富集磁珠, 把 DNA 转移至新的离心管中。