

MagPure CXP Kit

简介

MagPure CXP Kit 为 DNA 产物，酶促反应的 DNA 片段的宽幅 (50~2000bp) 选择性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性回收 50bp-2000bp DNA 片段，可通过加入不同的体积结合液，可选择性回收不同长度的 DNA 片段，特别适合引物二聚体严重 DNA 产物，或为第二代测序准备 DNA 文库。

试剂盒组成

编号	CXP-5	CXP-50	CXP-500
Buffer CXP	5 ml	50 ml	500 ml
磁珠 MPG2	0.65 ml	6.5 ml	65 ml

保存条件：试剂盒常温运输和保存，有效期为 18 个月。

准备工作

- 80%乙醇
- 准备结合液 CXP-G: 取 4.75ml Buffer CXP，加入 0.25ml 磁珠 MPG2 混匀，使用前充分混匀，该混合液室温可以放置 4 周。
- 50%异丙醇: 取 2.5ml 灭菌水，加入 2.5ml 异丙醇，混匀。该混合液室温可以放置 4 周。
- 准备结合液 SB: 取 2.125ml 灭菌水，375ul 磁珠 G2，加入 2.5ml 异丙醇，混匀。该混合液室温可以放置 4 周。
- 准备结合液 SSB: 375ul 磁珠 G2，加入 4.625ml 异丙醇，混匀。该混合液室温可以放置 4 周。

A. DNA 纯化步骤 (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，加入等体积的 Buffer CXP-G，混匀。
2. 按下表加入 50%异丙醇至 DNA 产物中，混匀，室温静置 3~5 分钟。磁力架静置 1 分钟，吸弃上清液。

50%异丙醇加入量	例：100ul 产物	吸附片段
不需加入	0ul	≥3000 bp
0.2 倍样品体积	20ul 50%异丙醇	≥750 bp
0.4 倍样品体积	40ul 50%异丙醇	≥500 bp
0.6 倍样品体积	60ul 50%异丙醇	≥400 bp
0.8 倍样品体积	80ul 50%异丙醇	≥300 bp
1.0 倍样品体积	100ul 50%异丙醇	≥250 bp
1.2 倍样品体积	120ul 50%异丙醇	≥200 bp
1.6 倍样品体积	160ul 50%异丙醇	≥150 bp
2.0 倍样品体积	200ul 50%异丙醇	≥100 bp

进行批量样品处理时，50%异丙醇可预先按比例进行混匀后一起添加。回收短 DNA 片段 (50~200bp)，建议用异丙醇 (方案 C) 可以缩小整个反应体积。

3. 加入 500ul 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. 瞬离收集残液，吸尽残液，空气干燥 10 分钟。
6. 加入 20~50ul Buffer TE 或 Low TE，重悬磁珠，室温静置 5 分钟溶解 DNA。磁力架静置，把 DNA 转移至新离心管中。

B. 两步法纯化流程 (回收中间的 DNA 片段)

1. **转移 PCR 产物或酶促反应液至 1.5ml 离心管中，加入等体积的 Buffer CXP-G 混匀。**

为方便描述，DNA 产物体积用“X”表示；大片段分选液 Buffer SB 加入量用“Y”表示。

2. **去除大片段 DNA:** 按下表加入 50%异丙醇至 DNA 产物中，混匀，室温静置 3~5 分钟。瞬离收集液体，磁力架静置 1 分钟收集磁珠，转移上清液至新离心管中。

50%异丙醇加入量	例：100ul 反物	去除片段
0.2 倍样品体积	20 ul 50%异丙醇	≥750bp
0.4 倍样品体积	40 ul 50%异丙醇	≥500bp
0.6 倍样品体积	60 ul 50%异丙醇	≥400bp
0.8 倍样品体积	80 ul 50%异丙醇	≥300bp
1.0 倍样品体积	100 ul 50%异丙醇	≥250bp
1.2 倍样品体积	120 ul 50%异丙醇	≥200bp

3. **回收中间片段:** 按下表加入适量的 Buffer SB 至上清液中，混匀，室温静置 5 分钟。瞬离收集液体，磁力架静置 1 分钟收集磁珠，小心吸弃溶液。

需回收 DNA	50% 异丙醇加入总量	例：100ul DNA 产物		
		50%异丙醇体积	结合液 SB 体积	DNA 产物
≥200bp	1.2X-Y	20 ul	100 ul	200~750bp
		40 ul	80 ul	200~500bp
		60 ul	60 ul	200~400bp
		80 ul	40 ul	200~300bp
≥150bp	1.5X-Y	20 ul	140 ul	150~750bp
		40 ul	120 ul	150~500bp
		60 ul	100 ul	150~400bp
≥100bp	2.0X-Y	80 ul	80 ul	150~300bp
		40 ul	160 ul	100~500bp
		60 ul	140 ul	100~400bp
		80 ul	120 ul	100~300bp
≥50bp	/	100 ul	100ul	100~250bp
		120 ul	80ul	100~200bp
		40 ul	加入 1.2 倍样品体积的 SSB。	50~500bp
		60 ul		50~400bp
80 ul	50~300bp			
100 ul	50~250bp			
		120 ul		50~200bp

4. 加入 500ul 80%乙醇混匀，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，吸尽残液，空气干燥 5~10 分钟。
7. 从磁力架上取下样品中，加入 30~50ul Buffer TE 或 Low TE，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 转移至新离心管中。

C. DNA 纯化步骤（去除短片段 DNA，用异丙醇分选）

1. 转移 PCR 产物或酶促反应液至 1.5ml 离心管中，加入 0.5 倍样品体积的 Buffer CXP-G，混匀。
2. 按下表加入异丙醇至 DNA 产物中，混匀，室温静置 5 分钟。磁力架静置 1 分钟，吸弃上清液。

例 100ul PCR 或酶促产物				
样品体积	CXP-G 体积	异丙醇加入量		吸附片段
		比例	体积	
100 μ l	50 μ l	0.1 倍	20 μ l	\geq 2000 bp
100 μ l	50 μ l	0.2 倍	30 μ l	\geq 400 bp
100 μ l	50 μ l	0.3 倍	40 μ l	\geq 250 bp
100 μ l	50 μ l	0.4 倍	60 μ l	\geq 150 bp
100 μ l	50 μ l	0.5 倍	100 μ l	\geq 100 bp
100 μ l	50 μ l	1 倍	100 μ l	\geq 50 bp

进行批量样品处理时，异丙醇与 Buffer CXP-G 可预先按比例进行混匀后一起添加。回收短 DNA 片段，用异丙醇可以缩小体积。

例 1：从 100 μ l PCR 或酶促反应液回收 100bp 的 DNA 片段，可按 50 μ l CXP-G 和 60 μ l 异丙醇的比例，配制新的结合液，然后加入 110 μ l 至反应液混匀，回收 \geq 100 bp 的 DNA。

例 2：从 100 μ l PCR 或酶促反应液回收 250bp 的 DNA 片段，可按 50 μ l CXP-G 和 30 μ l 异丙醇的比例，配制新的结合液，然后加入 80 μ l 至反应液混匀，回收 \geq 250 bp 的 DNA。

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. 瞬离收集残液，吸尽残液，空气干燥 5~10 分钟。
6. 加入 20~50 μ l Buffer TE 或 Low TE，重悬磁珠，室温静置 5 分钟溶解 DNA。磁力架静置 1 分钟，把 DNA 转移至新离心管中。

常见问题及解答

● 回收效率不高

1. 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。
2. 磁珠过干，过干会影响洗脱效率。
3. 磁珠使用前需要充分混匀，含磁珠的混合液在分液过程中要每隔 2 分钟进行混匀。
4. 回收大片段 gDNA 时，55 度振荡混匀 10 分钟提高洗脱效率。
5. 控制配液的精密度和分液的精密度。
6. 实验前请根据实验要求，调整结合液的添加量，以达到最佳的分选效果。

● A260/230 低

1. Buffer CXP 含有异硫氰酸胍会强烈干扰 A260/230，产物中含有痕量的异硫氰酸胍不影响下游应用，可忽略 A260/230 比值。
2. 80%乙醇清洗次数：大部分情况，80%清洗一次就可以达到除盐的效果。