MS系列羟基磁珠用于PCR产物纯化

Application Note 005

纳 微
NanoMicro

概述

MS系列磁珠（磁性氧化硅微球）为核壳型结构，内部为一超顺磁性氧化铁内核，外部包覆氧化硅外壳。该系列微球均为亚微米级尺寸，氧化硅表面的亲水性保证了微球在水中良好的分散性。MS系列磁珠通常用于核酸提取与纯化；未修饰的微球表面具有硅羟基，可以从血液、细胞培养液、动植物组织以及法医学样本中提取DNA和RNA；同时也适用于PCR产物纯化场景。以下为MS系列羟基磁珠用于PCR产物纯化的应用实例。

实验材料

磁珠	纳微MagneStar MS500-SiOH（40 mg/mL）
样本	1000 bp PCR反应混合物（以 λDNA为模板扩增获得）
缓冲液	结合缓冲液LA1，洗涤缓冲液WA1，TE缓冲液（10 mM Tris，0.5 mM EDTA，pH 8.0）

实验步骤（手动操作）

1. 样本前处理

a. 用移液器取20 μL PCR反应混合物（含有酶、引物二聚体、未反应完的dNTP、盐等）于离心管中，然后加入180 μL TE缓冲液混合，于室温（20 – 25 ℃）下孵育15 min；

2. 加入磁珠结合DNA

a. 取200 μL MagneStar MS500-SiOH磁珠分散液至1.5 mL离心管中，置于磁力架上，磁吸分离，去除上清液；

b. 加入400 μL TE缓冲液，用枪吹打混匀，磁吸分离；重复以上操作两次；然后加入200 μL结合缓冲液LA1，混匀磁珠待用；

c. 向上述样品中加入制备好的磁珠混悬液，混匀，于室温下孵育3 min；

d. 将离心管置于磁力架上，磁吸分离，去除上清液；

3. 洗涤磁珠，去除杂质

a. 向磁吸分离后的磁珠中加入500 μL洗涤缓冲液WA1，用枪头吹打混匀，静置5 min，再次磁吸分离；重复以上操作两次；

4. 从磁珠上洗脱DNA

a. 剩余磁珠室温下干燥3 – 5 min，然后加入200 μL TE缓冲液，混匀后，65℃孵育5 min，磁吸分离，收集上清液；

b. 测定所得上清液体积，用超微量分光光度计测定其中的DNA浓度，计算总回收量；取2 μL上清液点样进行凝胶电泳并与商业化柱式PCR产物纯化试剂盒回收产物进行对比。

实验结果

a. 从20 μL PCR反应产物中可提取出1.82 μg DNA，与柱式PCR产物纯化试剂盒标称数值相当；

b. A260/A280证实纯化所得DNA纯度优良；

c. 凝胶电泳显示所得DNA完整性良好，如图1所示。

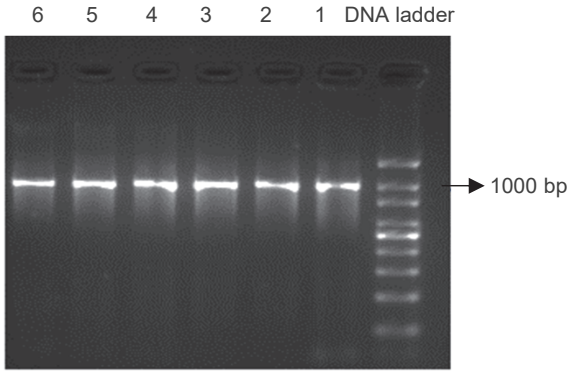

图1（右）：两种方法回收1000 bp PCR产物电泳图

编号1：PCR反应混合物

编号2 – 3：柱式PCR产物纯化试剂盒纯化PCR反应混合物两组平行组

编号4 – 6：MagneStar MS500-SiOH磁珠纯化PCR反应混合物三组平行组

表1. 不同方法回收1000 bp PCR产物测定结果

Sample	A260/A230	A260/A280	*V* (μL)	*C* (ng/μL)	Total (μg)	Recovery rate (%)
PCR反应混合物（输入）	2.17	1.92	20	70	1.4	/
柱式PCR产物纯化试剂盒（输出）	2.05	1.86	40	34.1	1.36	97%
	2.08	1.83	40	32.9	1.32	94%
磁珠法回收PCR产物（输出）	2.24	1.82	40	33.3	1.33	95%
	2.19	1.80	40	34	1.36	97%
	1.97	1.84	40	31.9	1.28	91%

相关产品订购信息

目录代码	品名	描述	包装规格
MSRSH-030	MagneStar MS300-SiOH	球形氧化硅磁珠，羟基，0.30 μm	25/50/100 mL (4.0% w/v)
MSRSH-050	MagneStar MS500-SiOH	球形氧化硅磁珠，羟基，0.50 μm	25/50/100 mL (4.0% w/v)
MSRSH-070	MagneStar MS700-SiOH	球形氧化硅磁珠，羟基，0.70 μm	25/50/100 mL (4.0% w/v)