



琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒(磁珠法)

产品信息:

试剂盒组成	保存	CZ101-01 100次	CZ101-02 200次
溶胶液 DD	室温	50ml	100ml
漂洗液 WB	室温	25ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇	25ml×2
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml	15ml
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:

琼脂糖凝胶电泳是一种用于分离纯化 DNA 片段的重要分子生物学实验技术。本试剂盒中的溶胶液可以溶解由 TAE 或 TBE 电泳缓冲液制备的琼脂糖凝胶块，从凝胶块中溶解的 DNA 片段可以特异性地吸附到硅基化磁珠的表面，在磁场的作用下，携带 DNA 的磁珠向磁铁方法进行定向移动和聚集，与剩余的其它杂质完全分开。通过简单的两次洗涤，可以将杂质完全洗净。最后用水或低盐缓冲液将结合在磁珠上的 DNA 洗脱下来，纯化的 DNA 可用于测序、酶切、标记和克隆等多种下游实验。该试剂盒可与核酸提取仪等工作站配套使用，可以简单、快速地进行大规模核酸提取，达到降低工作量和提高工作效率的目的。

产品特点:

- 1.磁珠之间吸附量差异极小，可重复性好。
- 2.使用了优质溶胶液，不含传统溶胶液的碘化钠和高氯酸盐，不影响后续下游实验。
- 3.溶胶液为黄颜色，便于观察溶胶效果和监测 pH 值变化从而达到最佳结合效果，大大提高回收效率。

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℃水浴加热几分钟，即可恢复澄清。使用前应该恢复到室温。
- 2.Magbead磁珠严禁冷冻。使用前一定要涡旋震荡，充分重悬。除Magbead磁珠外其它组分储存于低温（4℃或者-20℃）会造成溶液沉淀，影响使用效果，因此运输和储存均在室温下（15℃-25℃）进行。
- 3.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。
- 4.电泳时最好使用新的电泳缓冲液，以免影响电泳效果和回收效果。
- 5.溶胶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。
- 6.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降低。7.回收DNA的量和起始DNA的量、洗脱体积、DNA片断大小有关。一般1-20μg，100bp-5kb的DNA片段，回率可高达85%—95%。
- 8.pH值≤7.5时，吸附膜吸附DNA的效率最高。如果切下来的凝胶中含有电泳缓冲液太多，造成溶胶后溶胶液pH偏高，会导致回收率降低。溶胶后，如果溶胶液依旧保持黄色，说明pH正常；如果变成橘红色或者淡紫色，说明pH偏高，可在胶充分溶解后加5-10μl 3M醋酸钠（pH5.2）将pH值调到5-7（黄色）。
- 9.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℃。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: 小型离心机、水浴或金属浴加热块、磁力架(博迈德)、震荡器、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. 在长波紫外灯下，用干净刀片将所需回收的 DNA 条带切下，尽量切除不含 DNA 的凝胶，得到凝胶体积越小越好。
2. 将切下的含有 DNA 条带凝胶放入 1.5ml 或 2.0ml 离心管，称重。
3. 加 3 倍体积溶胶液 DD。(凝胶重为 100mg，则加入 300μl 溶胶液)

如果凝胶浓度大于 2%，应加入 6 倍体积溶胶液。

- 56°C 水浴放置 10 min（或直至胶完全溶解）。每 2-3 min 涡旋震荡一次加速溶解。
- 离心数秒，置于室温数分钟，尽量将离心管中的液体温度降至室温。
- 每个离心管中加入 50 μ l 的磁珠（磁珠也可以预先加到离心管中），放在合适型号的震荡器上，震荡结合 10 sec(或者将离心管颠倒混匀 10 sec)。
注意：设定的震荡速度一定要将磁珠完全震荡起来，让磁珠充分捕获 DNA。
- 将离心管放于磁力架上静置 2 min，待磁珠完全吸附于离心管的侧壁上后，带着磁力架倒转离心管快速倒掉上清（保持离心管固定在磁力架上）。
- 从磁力架上取下离心管置于普通离心管架上，向每个离心管中加入 500 μ l 的 WB 洗涤液（加入前检测 WB 洗涤液中是否已加入无水乙醇），涡旋震荡 10 sec，使磁珠充分悬浮于 WB 洗涤液中(或者将离心管颠倒混匀 10 sec)。
- 振荡结束后，用手甩，将粘在盖上的磁珠和液滴甩下。
- 将离心管放于磁力架上静置 2 min，待磁珠完全吸附于离心管侧壁上后，带着磁力架倒转离心管快速倒掉上清（保持离心管固定在磁力架上）。
- 重复 8-10。
- 保持离心管固定于磁力架上，待磁珠完全吸附于离心管侧壁上后，用移液器小心吸掉管底和管盖上的残余液体（一旦吸到磁珠，可以打掉液体再让磁铁吸附一下磁珠）。敞开口室温放置 15 min 以挥发乙醇。也可用电风扇对着离心管口吹风以加速乙醇挥发，以肉眼观察不到离心管底部有液滴残留时为止。乙醇挥发过程中需避免磁珠的过度干燥。
- 从磁力架上小心取下离心管置于普通离心管架上，向每个离心管中加入 30-40 μ l 的 EB 洗脱液或去离子水，涡旋震荡保证磁珠完全悬浮于 EB 洗脱液中,室温静止放置 1 min。
- 将离心管放置在磁力架上静置 2 min，待磁珠完全吸附于离心管侧壁上后，用吸头将 20-30 μ l 液体到一个新的 1.5ml 的离心管中。