



Magbead Gel Extraction Kit

磁珠法琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒

目录号：CW2515S (96 preps)

保存条件：室温 (15-30℃)

产品内容

Component	CW2515S 96 preps
Buffer MG	90 ml
Buffer GW1 (concentrate)	52 ml
Buffer GW2 (concentrate)	50 ml
Buffer EB	30 ml
Magbeads PN	2×1 ml

产品简介

该试剂盒提供了一种简单、快速、高效的用于琼脂糖凝胶DNA回收的方法。它可以从TAE或TBE制成的琼脂糖凝胶中回收100 bp以上的DNA片段，回收效率高达80%。溶液将琼脂糖凝胶溶解后，磁珠选择性的吸附DNA片段。经漂洗后，洗脱得到的DNA纯度良好，可用于测序、酶切、PCR、克隆等下游实验。

该试剂盒可与液体工作站或磁棒法自动磁珠提取系统配套使用，简单、快速地进行大规模提取，大大降低了实验者的工作量和实验中的人为误差。

自备仪器、试剂

1. 手动单管提取：
 - 1) 恒温混匀仪——货号：CW2593
 - 2) 2/15 ml磁力架——货号：CW2594
 - 3) 异丙醇、无水乙醇
2. 手动96孔深孔板提取：
 - 1) 恒温混匀仪——货号：CW2593
 - 2) 废液抽吸系统
 - 3) 手动连续分液器——推荐品牌Eppendorf
 - 4) 电动连续分液器——推荐品牌Eppendorf
 - 5) 手动连续分液器分液管（25 ml）——推荐品牌Eppendorf
 - 6) 96孔板磁力架——货号：CW2595
 - 7) 异丙醇、无水乙醇

实验前准备及重要注意事项

1. 电泳时最好使用新的电泳缓冲液，以免影响电泳和回收效果。
2. 切胶时，紫外照射时间应尽量短，以免对DNA造成损伤。
3. Magbeads严禁冰冻、离心。冰冻和离心可能会对Magbeads造成不可逆的损害。
4. Magbeads使用前需涡旋震荡20秒使其充分混匀。
5. 如Buffer MG中出现沉淀，请在50℃水浴锅中重新溶解，摇匀后即可使用。
6. 首次使用前应按试剂瓶标签在Buffer GW1和Buffer GW2中加入无水乙醇并做好标记。
7. 实验过程中，磁珠在溶液中的充分混匀对于提取的得率与纯度都有很大的影响。实验过程中务必使磁珠与溶液充分混匀。不同厂家生产的恒温混匀仪震荡混匀效果有一定差异，实验过程中请注意观察磁珠状态。如出现磁珠贴壁等未充分混匀的现象，请用移液器吹吸混匀或调整震荡频率。

操作步骤

一、手动单管操作

1. 在长波紫外灯照射下将目的条带从琼脂糖凝胶中切下（尽量去除多余的琼脂糖凝胶），称重后将其放入干净的1.5 ml离心管中。
2. 向离心管中加入3倍胶体积的Buffer MG（如果胶块重0.1 g，其体积为100 μ l）后，将其放入50℃的水浴锅中孵育10分钟，期间每隔3分钟涡旋震荡5秒钟。
3. 将离心管从水浴锅中取出，检测胶块是否完全融化以及溶液是否由黄色变成紫色（如胶块未完全溶解，将离心管放回水浴锅中继续孵育；如溶液颜色由黄色变成紫色，向离心管中加入10 μ l 3M的醋酸钠溶液）。短暂离心后，将离心管室温放置5分钟。

4. 向离心管中加入20 μl 充分混匀的Magbeads，涡旋震荡5秒钟后将其放入25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀5分钟或连续颠倒混匀10分钟。
5. 将离心管放于磁力架上静置1分钟，待Magbeads完全吸附于离心管侧壁后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
6. 将离心管从磁力架上取下，加入750 μl Buffer GW1后涡旋点震1分钟或涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2分钟（震荡过程中确保Magbeads处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置2分钟，待Magbeads完全吸附于离心管侧壁后轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
7. 将离心管从磁力架上取下，加入750 μl Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇）后涡旋点震1分钟或涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2分钟（震荡过程中确保Magbeads处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置2分钟，待Magbeads完全吸附于离心管侧壁后轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
8. 重复步骤7。
9. 保持离心管固定于磁力架上，用移液器进一步去除离心管管底和管盖上的溶液，之后室温放置5-10分钟，使乙醇挥发干净。
注意：如果离心管侧壁上有液珠，可向离心管中加入750 μl 无水乙醇。盖盖后颠倒离心管（保持离心管固定于磁力架上），之后彻底弃去无水乙醇。
10. 将离心管从磁力架上取下，加入30-100 μl Buffer EB。涡旋震荡使磁珠完全悬浮于洗脱液中后将其放于50 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟，或将离心管放于50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育10分钟，期间每隔3分钟涡旋震荡10秒钟。
11. 将离心管放于磁力架上静置2分钟，待Magbeads完全吸附于离心管侧壁后用移液器将洗脱液转移至新的离心管中-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

二、手动96孔板操作

1. 在长波紫外灯照射下将目的条带从琼脂糖凝胶中切下（尽量去除多余的琼脂糖凝胶），称重后将胶块放入2 ml 96孔深孔板（简称“深孔板”）中并记录每孔中的样品名称。
2. 向深孔板中加入3倍胶块体积的Buffer MG（如果胶块重0.1 g，其体积为100 μl ），盖盖后将96孔板放入50 $^{\circ}\text{C}$ 的水浴锅中孵育10分钟，期间将深孔板放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2次，每次10秒钟。
3. 将深孔板从水浴锅中取出放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀5分钟，用8通道移液器向深孔板中加入20 μl 充分混匀的Magbeads。之后将深孔板固定于25 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀5分钟。

4. 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。

注意：用废液抽吸系统去除溶液时需将真空泵调节至较小的负压值，使溶液以一个合适的速度被吸走，速度过快会造成磁珠的丢失。

5. 用手动连续分液器或8通道移液器向深孔板中加入500 μ l Buffer GW1（加入前检查是否已加入无水乙醇），之后将深孔板固定于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀3分钟。

6. 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。

7. 用手动连续分液器或8通道移液器向深孔板中加入500 μ l Buffer GW2（加入前检查是否已加入无水乙醇），之后将深孔板固定于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀3分钟。

8. 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。

9. 重复步骤7-8。

10. 用手动连续分液器或8通道移液器向96孔深孔板中加入500 μ l无水乙醇，之后将深孔板固定于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀1分钟。

11. 将板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟。用废液抽吸系统或8通道移液器弃去溶液，期间避免枪头接触磁珠。

12. 保持深孔板固定于96孔板磁力架上，将深孔板倒置于干净的吸水纸上放置2分钟。之后将深孔板从96孔板磁力架上取下放于100 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上静置5分钟。

13. 用电动连续分液器或8通道移液器向深孔板加入50-100 μ l Buffer EB，之后将深孔板放于100 $^{\circ}$ C（因该恒温混匀仪为悬空加热，洗脱液实际温度在50-60 $^{\circ}$ C之间）、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀10分钟。

14. 将深孔板从恒温混匀仪上取下后放于96孔板磁力架上静置2分钟，用8通道移液器溶液转移至96孔PCR板中盖盖后-20 $^{\circ}$ C保存备用。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途