DNA 凝胶回收试剂盒 (磁珠法)

本试剂盒是利用特殊处理的全顺磁性磁珠从琼脂糖凝胶中回收纯化 DNA 片段的试剂盒。试剂盒采用了独特的凝胶融解缓冲液，具有较强的缓冲性能并含有 pH 指示剂，方便判断溶液的 pH 值是否适合 DNA 与磁珠结合。本试剂盒具有高效、快速、方便之特点，纯化的 DNA 片段纯度高，完整性好，可直接用于连接反应、PCR 扩增、DNA 测序等各种分子生物学实验。本试剂盒可以采用手工操作进行，也可以经对自动化提取设备进行参数调试后，用于自动化或半自动化的工作平台。

一、试剂盒组成与保存

Cat.No.	EK03504	EK03505	EK03550
制备次数	4 tests	50 tests	500 tests
Magnetic beads	0.4 ml	5 ml	50 ml
Binding buffer A	6 ml	33 ml×2	440ml+210ml
Binding buffer B	3 ml	33 ml	330 ml
Wash buffer A	2.8 ml	28 ml	270 ml
Wash buffer M	1 ml	10 ml	80 ml
Eluent solution	1 ml	5 ml	50 ml

本试剂盒可以在室温下（15-25℃）运输和保存。

二、使用前准备

1. 第一次使用前，Wash buffer M 中加入指定体积的无水乙醇。
2. 准备无核酸和核酸酶污染的 Tip 头、离心管。
3. 使用前检查 Binding buffer B 是否出现沉淀，若出现沉淀，应于 70℃水浴加热熔化并冷却至室温后使用。

三、操作步骤

1. 称取一个 1.5ml 离心管的重量，并记录；
2. 在紫外灯下切下含有目的 DNA 的琼脂糖凝胶条带，用纸巾吸尽凝胶表面液体放入离心管并切碎。称取离心管和凝胶总重量后，计算得到凝胶重量，以该重量作为一个凝胶体积（如 100 mg=100μl 体积）；
3. 加入 3 倍凝胶体积的 Binding buffer A，混匀后 75℃加热（低熔点琼脂糖凝胶可 40℃ 加热），每 2-3 分钟间断混匀一次，直至凝胶块完全熔化（约 6-8 分钟）；

   注：Binding buffer A 为红色溶液。在熔化凝胶的过程中，可以帮助观察凝胶是否完全熔化。
4. 加入 1.5 倍凝胶体积的 Binding buffer B，充分混匀；

注：加入 Binding buffer B 后混合物颜色变为黄色，充分混匀以保证形成均一的黄色溶液。

5. 加入 100μl Magnetic beads，室温结合 3 分钟，其间每 1 分钟振荡混匀 20 秒；

   注：Magnetic beads 在每次吸取之前都要充分混匀，且吸取的磁珠必须一次使用，不可对一次吸取的磁珠进行分液。

6. 将离心管放置在磁力架上，静置 1min，待溶液澄清后，吸除上清；
7. 加入 500μl Wash buffer A，充分振荡混匀。将离心管放于磁力架上，静置，待溶液澄清后，吸除上清；
8. 加入 700μl Wash buffer M，充分振荡混匀。将离心管放于磁力架上，静置，待溶液澄清后，弃上清；

   注：确认 Wash buffer M 中已经加入指定体积的无水乙醇。

9. 尽量吸干上清，室温或 37℃放置 5-10 分钟，待乙醇完全挥发干净；
10. 向磁珠中加入 50 -100μl Eluent solution，室温结合 3 分钟，其间每隔 1 分钟振荡 20 秒；

    注：加入 Eluent solution 前，先将 Eluent solution 加热至 50℃，有助于更好的洗脱 DNA 片段。

11. 将离心管放于磁力架上，待溶液澄清后，吸取上清，转移到干净的离心管中。