

# 琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒

(工业客户)

目录号: **CZ220-100、CZ220-500、CZ220-1000**

组成成分	CZ220-100	CZ220-500	CZ220-1000
溶胶液 (Buffer GSB)	60mL	450mL	450mL×2
去蛋白液 (Buffer PD)	72mL	360mL	360mL×2
漂洗液 (Wash Buffer)	24ml	120ml	120ml×2
洗脱液 (Buffer EB)	10mL	30 mL	60mL
Magnetic beads	4mL	30 mL	60mL

## 储存条件:

该试剂盒置于室温 (15~25℃) 干燥条件下, 可保存 12 个月, 更长时间的保存可置于 2~8℃。2~8℃ 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在 37℃ 水浴中预热 10 min, 以溶解沉淀。

## 产品简介:

本试剂盒采用可以高效、专一结合 DNA 的硅基质材料和独特的缓冲液系统, 从 TAE 或 TBE 琼脂糖凝胶上回收 DNA 片段, 同时除去蛋白质、其它有机化合物、无机盐离子及寡核苷酸引物等杂质。可回收 100 bp~30 kb 大小的片段, 回收率可达 80% 以上, 每 50  $\mu$ L Magic beads 每次可吸附的 DNA 量为 25 $\mu$ g。使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

## 产品特点

快速: 整个操作过程只需十几分钟, 节省时间。

多样: 可以回收单链、双链 DNA 片段以及环状质粒 DNA。

高效: 能特异的吸附核酸的磁珠和精心配制的缓冲液保证每次最大量回收到高纯度目的 DNA

纯度高: 回收效率高达 80%, 得到 DNA OD<sub>260/280</sub>=1.8-2.0。

## 自备仪器、试剂、耗材：

自动化提取仪（32 孔）、 King Fisher Flex（96 孔）、核酸提取仪所用的磁棒套、96 孔 KF 板（尖底）DW Plate 、standard plate、封板膜、涡旋混匀仪、Thermo shaker、烘箱、无水乙醇、异丙醇。

## 实验前准备事项：

按照下表添加异丙醇至去蛋白液（Buffer PD），准备 80%的无水乙醇。

去蛋白液 Buffer PD 配制表.

成分	CZ220-100	CZ220-500	CZ220-1000
去蛋白液	72ml	360ml	360ml×2
<b>Buffer PD</b>			
异丙醇	48ml	240ml	240ml×2

80%乙醇配制表.

成分	CZ220-100	CZ220-500	CZ220-1000
<b>Wash Buffer</b>	24ml	120ml	120ml×2
乙醇	96ml	480ml	480ml×2

## 操作步骤:

使用前请先在蛋白液 Buffer PD 中加入异丙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

### 32 孔自动提取仪操作方案:

1. 在长波紫外线照射下, 将单一的目的 DNA 条带从琼脂糖凝胶中切下(尽量切除多余部分), 尽量控制胶块的重量 (<200mg) 放入干净的 96 孔板的孔 1、7 中, 并做好记录。
2. 试剂分装

胶回收试剂分装表

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	溶胶液 GSB/异 丙醇	去蛋白 /磁珠	去蛋白	Wash Buffer	Wash Buffer	洗脱液 EB	溶胶液 GSB/异 丙醇	去蛋白 /磁珠	去蛋白	Wash Buffer	Wash Buffer	洗脱液 EB
A	500/100	500/30	500	500	500	100	500/100	500/30	500	500	500	100
B	500/100	500/30	500	500	500	100	500/100	500/30	500	500	500	100
C	500/100	500/30	500	500	500	100	500/100	500/30	500	500	500	100
D	500/100	500/30	500	500	500	100	500/100	500/30	500	500	500	100
E	500/100	500/30	500	500	500	100	500/100	500/30	500	500	500	100
F	500/100	500/30	500	500	500	100	500/100	500/30	500	500	500	100
G	500/100	500/30	500	500	500	100	500/100	500/30	500	500	500	100
H	500/100	500/30	500	500	500	100	500/100	500/30	500	500	500	100

3. 放入核酸提取仪器中, 插好磁力套, 运行程序 Ipure Gel DNA。程序步骤如下表:

Ipure Gel DNA 程序

步骤	槽位	名称	等待时间 (min)	混合时间 (min)	吸磁时间 (sec)	混合 模式	体积 ( $\mu$ l)	温度状态	温度 ( $^{\circ}$ C)
1	1	lysis	0	15	0	超速	600	加热	85
2	2	Trans	0	1	30	超速	500	关闭	0
3	1	Bind	0	5	60	变速	750	关闭	0
4	2	PD	0	1	30	超快	500	关闭	0
5	3	PD	0	1	30	超快	500	关闭	0
6	4	Wash Buffer	0	1	30	超快	500	关闭	0
7	5	Wash Buffer	0	1	30	超快	500	关闭	0
8	6	elute	1	3	60	超快	40	关闭	0
9	1	Drop	0	1	0	超快	600	关闭	0

4. 程序运行 15min 左右, 仪器提示加入异丙醇, 此时在孔 1、7 加入 100  $\mu$ l 异丙醇, 将样品板放回提取仪中, 继续未运行完的程序。
5. 程序运行完毕, 转移孔 6、12 的 DNA 至新的无 RNase、DNase 离心管中, 并保存 -20 $^{\circ}$ C 或进入下一步实验。

## 96 孔自动提取仪操作方案 (KingFisher Flex):

1. 在长波紫外线照射下, 将单一的目的 DNA 条带从琼脂糖凝胶中切下 (尽量切除多余部分), 尽量控制胶块的重量 (<200mg) 放入干净的 96 孔板 KF DW plate 中, 并做好记录。






2. 用排枪或移液工作站通量移取 500 $\mu$ l 的溶胶液 GSB, 到装有切好胶的 96 孔 KF DW plate 中; 准备分装试剂: 去蛋白液 1 块、80%乙醇漂洗液 2 块、洗脱液 EB 1 块。

(去蛋白液 PD 1 块---体积 500 $\mu$ l\磁珠 30 $\mu$ l、80%的乙醇 2 块---体积 500 $\mu$ l、洗脱液 EB 1 块---体积 40 $\mu$ l; 可以提前准备好, 用封口膜封好, 防止乙醇挥发)

3. 运行程序 **Ipure Gel DNA** 程序, 按照仪器的提示, 将准备的试剂依次放入 Kingfisher 仪器的卡槽中, 请事先将 96 孔磁力套到装有去蛋白液 Buffer PD、磁珠 magnetic Beads 的 KF DW plate 中。

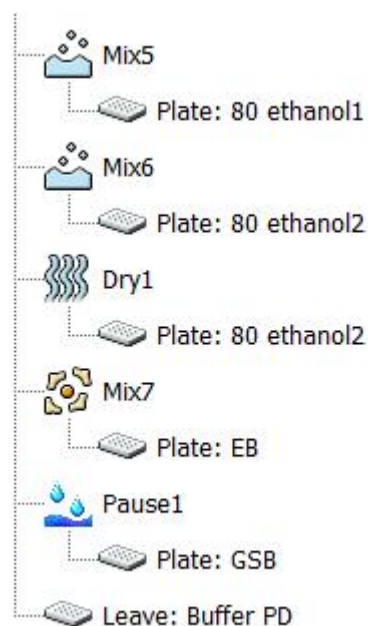
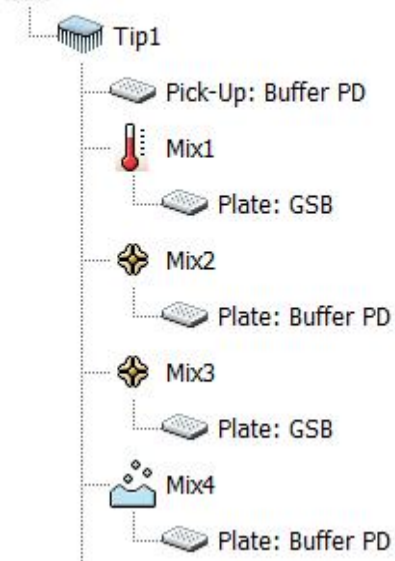
(如果第一运行, 需要导入程序 **Ipure Gel DNA** 程序, 或者打开 **Bind it 3.3.1** 进行编辑, 或联系经销商索取)

Kingfisher 运行程序编辑表

Protocol summary			
<i>IpureGel DNA</i>			
Layout	Buffer PD	96 DW plate	
	GSB	96 DW plate	
	80 ethanol1	96 DW plate	
	80 ethanol2	96 DW plate	
	EB	96 standard plate	

### Protocol Steps

KF Flex IpureGel DNA



4. 程序运行 15min 左右, 根据仪器提示补加异丙醇 100 $\mu$ l 到 96 孔 KF DW plate 中, 继续未运行完的程序。

5. 程序运行完后, 取出洗脱板 EB, 用封口膜盖好, 储存于 -20 $^{\circ}$ C 或进入下一步实验。

## 手动方案操作方案:

1. 将单一的目的 DNA 条带从琼脂糖凝胶中切下 (尽量切除多余部分) 放入干净的 96 孔板中。

2. 向胶块中加入 500  $\mu$ l 溶胶液 GSB, 小心贴上封口膜, 65 $^{\circ}$ C 放置 15~20min, 以确保胶块充分溶解。

(为确保充分溶胶, 可在溶胶至 10min 轻摇 96 孔板 7-8 次, 切勿上下颠倒以防封口膜未贴好, 引起泄漏而导致污染)

3. 室温放置在恒温 shaker 900 rpm, 5min。以确保胶块充分溶解。

4. 小心撕开封口膜, 在上一步所得溶液加入 30 $\mu$ l 磁珠液和 100  $\mu$ l 异丙醇溶液, 小心贴上封口膜, 放置在恒温 shaker 900 rpm 混匀 10 min, 将 96 孔板放置磁力架上, 吸磁 1 min, 直到磁吸完全 (溶液完全澄清, 因磁力架而异, 可以延长磁吸时间)。

5. 小心撕开封口膜, 翻转 **96 孔板和磁力架**, 将上清液倾倒入废水池中, 请勿将磁珠倾倒;

6. 加入 500  $\mu$ l 去蛋白液 (Buffer PD) (使用前请先检查是否已加入异丙醇), 放置在恒温 shaker 900 rpm 混匀 2min, 将 96 孔板放置磁力架上, 吸磁 1 min。

7. 翻转 **96 孔板和磁力架**, 将上清液倾倒入废水池中, 请勿将磁珠倾倒; 加入 500  $\mu$ l 80% 的无水乙醇, 放置在恒温 shaker 900 rpm 混匀 2min, 将 96 孔板放置磁力架上, 吸磁 1 min。

8. 重复操作步骤 7。

9. 用移液器吸弃上清, 请勿碰到磁珠; 尽量除去 80% 无水乙醇。将 96 孔板置于 65 $^{\circ}$ C 烘箱放置 5 min, 以防止残留的乙醇影响测序。

10. 向 96 孔板中加入 30  $\mu$ l 洗脱液 Buffer EB, 放置在恒温 shaker 900 rpm 混匀 5min, 将 96 孔板放置磁力架上, 吸磁 5 min, 用移液器吸取 DNA 溶液至新的 1.5ml 的离心管中, 直接进入下一步实验或储存 ~20 $^{\circ}$ C 备用。

为提高洗脱效率, 在洗脱 DNA 前请将洗脱液 Buffer EB 加热至 65 $^{\circ}$ C。

## 注意事项：

**第一次使用本试剂盒前，请通读注意事项，以确保您的实验顺利成功**

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. 如下一步实验要求较高，则应尽量使用 TAE 电泳缓冲液。
3. 切胶时，紫外照射时间应尽量短，以免对 DNA 造成损伤。
4. 如果回收率较低，可在胶充分溶解后检测 pH 值，如 pH 值大于 7.5，可向含有 DNA 的胶溶液中加入 10~30  $\mu$ l 3 M 醋酸钠 (pH5.2) 将 pH 值调到 5-7 之间。
5. 回收 <100 bp 及 >10 kb 的 DNA 片段时，应加大溶胶液的体积，延长吸附和洗脱的时间。
6. 使用前请加入指定量的无水乙醇。
7. 所有实验都在室温条件下进行。
8. 洗脱时，推荐加热 EB 到 65°C 使用，提高洗脱效率。