

目 录

简介.....	2
原 理.....	2
保质期.....	2
试剂盒组成.....	3
准备工作.....	3
方案 1:琼脂糖凝胶 DNA 回收单管式手工操作.....	4
方案 2:琼脂糖凝胶 DNA 回收单管式手工离心操作.....	5
方案 3: 琼脂糖凝胶 DNA 回收高通量 96 孔板操作.....	6
方案 4: PCR 产物或酶促反应液 DNA 回收高通量操作.....	7
常见问题回答.....	8

版本: 2020-10

简介

MagPure Gel Pure DNA Kits 适合于从各种浓度的琼脂糖凝胶中回收 50bp-20Kbp DNA 片段。此外，该试剂盒也适合于从 PCR 产物中，酶促反应液中，或由各种方法获得的粗制的 DNA(包括基因组 DNA)中回收纯化 DNA。试剂盒采用磁珠法纯化技术，可确保在 20~30 分钟完成纯化工作。DNA 回收效率可高达 80%，纯化的 DNA 可直接用于自动测序，连接，酶切，PCR，标记等。

原理

MagPure 纯化系统采用高结合力的超顺磁性的磁性粒子为基质，在高浓度离子化剂(如盐酸胍或异硫氰酸胍)条件下，纳米磁性粒子可通过氢键和静电吸附核酸，而蛋白质或其它杂质不被吸附而去除。吸附了核酸的纳子粒子经洗涤去除蛋白质和盐，最后可以用低盐缓冲液(如 Buffer TE)或水，洗脱出粒子上的核酸。得到的核酸纯度高，可直接用于各种下游实验。MagPure LQ 系统采用的溶液体系和纯化方式是专门为移液工作站和手工提取而设计的。

MagPure Gel DNA LQ Kit 基于高结合力的纳米磁性粒子的纯化方式。凝胶在溶胶液作用下溶解，DNA 释放到溶胶液中。加入磁性粒子吸附 DNA，而溶解的琼脂糖则不被吸附而去除。吸附了 DNA 的粒子经洗涤液洗涤去除琼脂糖和其它杂质，再经含乙醇洗涤去除盐分，最后 DNA 被低盐缓冲液(Buffer TE)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、二代测序、芯片分析等实验。

组 成

MagPure Gel Pure DNA Kit B

Cat.No.	MD5001-01B	MD5001-02B	MD5001-03B
Package	50 Preps	500 Preps	5000 Preps
Buffer GDP	30 ml	250 ml	3 x 900 ml
MagPure Particles	1.7 ml	20 ml	3 x 70 ml
Buffer DW1	20 ml	180 ml	2 x 800 ml
Elution Buffer(10mmTris,pH8.5)	10 ml	60 ml	500 ml

保 质 期

本产品 在室温下可以保存18个月。

配制 Bind Beads GE:

取出 MagPure Particles，用力振荡使磁珠充分分散，然后全部转移至 Buffer GDP 中，颠倒混匀。该混合液可以在室温保存 3 个月。若需要长期使用，按比例预混 Buffer GDP/磁珠。本产品提供的次数，是按 250mg 凝胶或 250ul 反应液进行计算。

1. 琼脂糖凝胶 DNA 回收的手工单管式操作

该方案采用单管式手工操作，适合于从各种浓度的琼脂糖凝胶中回收 100bp-20kb 的 DNA 片段。

准备工作

- 75%乙醇
 - 水浴锅温度设为 55~60°C
 - 使用前，充分振荡 Bind Beads GE，让磁珠充分重悬。
1. 配制合适浓度的琼脂糖凝胶，电泳分离 DNA 片段。当 DNA 片段分离后，把凝胶放置于紫外灯下，快速切下含目的 DNA 片段的凝胶，并尽量去除多余的凝胶。
本产品可直接用于 PCR 产物、酶促反应液、粗制基因组 DNA 的纯化应用。把 DNA 产物转移至 1.5ml 离心管中，加入 2 倍体积的 Bind Beads GE 至样品中，按第 3 步进行操作。处理高浓度的粗制 DNA 时，建议稀释后再进行操作。本产品(500ul Bind Beads GE)最高吸附力为 10~15ug，多余的 DNA 无法吸附，请注意核酸的投入量。
 2. 称取凝胶块的重量，并转移至 1.5 或 2.0ml 离心管中。**按 100mg 凝胶块相当 100ul 体积计算，加入 2 倍体积 Bind Beads GE。**50°C 水浴 7~12 分钟，让凝胶块完全溶解。水浴期间，颠倒混匀 3 次加速溶胶。
 3. 颠倒混匀 10-15 次，让磁珠充分混匀。转移离心管至磁力架上吸附 3 分钟，缓慢吸弃溶液。短暂离心收集残液，吸弃残液。
 4. **加入 300ul Buffer DW1 到离心管中，涡旋混匀 10 秒**，转移至磁力架上吸附 2 分钟，倒弃溶液。
 5. **加入 600ul 75%乙醇至离心管中，涡旋混匀 15 秒**，转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃溶液。
 6. **加入 600ul 75%乙醇至离心管中，涡旋混匀 15 秒**，转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃溶液。
 7. 短暂离心收集管壁上的液滴，转移至磁力架上，小心吸尽残液。打开离心管的盖子，空气干燥 10 分钟，或 50~55 度干燥 3-5 分钟。
 8. **加入 30~50ul Elution Buffer**，涡旋或弹打打散磁珠，室温或 55~60°C 温育 5~10 分钟。
 9. 短暂离心收集液滴。转移至磁力架上吸附 2 分钟。把 DNA 转移至新的离心管中。

2. PCR 产物、酶促反应液、粗制 DNA 高通量手工操作

该方案采用 96 孔板的高通量手工操作方式，适合于从 96 个 PCR 产物、酶促反应液、粗制基因组 DNA 等样品中回收 100bp-30kb 的 DNA 片段。

准备工作

- 75%乙醇
- 灭菌水
- 96 孔磁力架
- 使用前，充分振荡 Bind Beads GE，让磁珠充分重悬。

1. 在 1.2ml 的 96 孔板中，转移 300 μ l Bind Beads GE。
2. 转移 50-150 μ l PCR 产物、酶促反应液、粗制 DNA 至装有磁珠的 96 孔板中。吸打混匀 5~10 次，室温放置 2 分钟。或 700~900rpm 振荡混匀 3~5 分钟。
若样品体积超过 150 μ l，则按 1:2 比例加入 Bind Beads GE。高浓度的粗制 DNA 建议稀释后再进行操作。本产品 (500 μ l Bind Beads GE) 最高吸附力为 10~15 μ g，多余的 DNA 无法吸附，请注意核酸的投入量。
3. 转移至 96 孔磁力架上吸附 3 分钟。将磁力架和 96 孔板扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。【在反转倒废液时，让磁力架和 96 孔板紧扣一起不要松动，以防止磁珠的丢失，废液倒完后，反扣于吸水纸上吸尽孔口的残液，不要让溶液回流到孔中】。
4. 加入 500 μ l 75%乙醇。700~900rpm 振荡混匀 30~60 秒。
5. 转移至磁力架上吸附 3 分钟。将磁力架和 96 孔板扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。
6. 再加入 500 μ l 75%乙醇。700~900rpm 振荡混匀 30~60 秒。
7. 转移至磁力架上吸附 3 分钟。将磁力架和 96 孔板扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于一叠吸水纸 2 分钟吸尽残液。
8. 正放 96 孔板，50~55 度干燥 5~7 分钟或室温干燥 15 分钟。
9. 加入 15~30 μ l Elution Buffer，700~900rpm 振荡混匀 3 分钟。转移至磁力架上吸附 2 分钟。把 DNA 转移至新的板中。

3. 琼脂糖凝胶 DNA 回收的手工单管式离心操作

该方案采用单管式手工操作，适合于从各种浓度的琼脂糖凝胶中回收 100bp-20kb 的 DNA 片段。

准备工作

- 75%乙醇
 - 水浴锅温度设至 55℃
 - 使用前，充分振荡 Bind Beads GE，让磁珠充分重悬。
1. 配制合适浓度的琼脂糖凝胶，电泳分离 DNA 片段。当 DNA 片段分离后，把凝胶放置于紫外灯下，快速切下含目的 DNA 片段的凝胶，并尽量去除多余的凝胶。
 2. 称取凝胶块的重量，并转移至 1.5 或 2.0ml 离心管中。**按 100mg 凝胶块相当 100 μ l 体积计算，加入 2 倍体积 Bind Beads GE。**50℃ 水浴 6~10 分钟，让凝胶块完全溶解。水浴期间，颠倒混匀 3 次加速溶胶。
 3. 颠倒混匀 10-15 次让磁珠充分混匀，13,000 \times g 离心 1 分钟，吸弃溶液。
 4. **加入 300 μ l Buffer DW1，涡旋混匀 15 秒**，13,000 \times g 离心 1 分钟，吸弃溶液。
 5. **加入 500 μ l 75%乙醇至离心管中，涡旋混匀 15 秒**，13,000 \times g 离心 1 分钟收集磁珠，吸弃溶液。
 6. **加入 500 μ l 75%乙醇至离心管中，涡旋混匀 15 秒**，13,000 \times g 离心 1 分钟收集磁珠，吸弃溶液。
 7. 13,000 \times g 离心 1 分钟，吸尽所有残液。
 8. 打开离心管的盖子，空气干燥 5 分钟。
 9. **加入 30~50 μ l Elution Buffer**，涡旋或弹打打散磁珠，50℃ 温育 5 分钟，涡旋混匀 15 秒。
 10. 13,000 \times g 离心 2 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

4. 琼脂糖凝胶 DNA 回收的高通量手工操作

该方案采用 96 孔板的高通量手工操作方式，适合于从 96 个琼脂糖凝胶块中回收 100bp-20kb 的 DNA 片段。

准备工作

- 75%乙醇
- 96 孔磁力架
- 使用前，充分振荡 Bind Beads GE，让磁珠充分重悬。

1. 在 2.2ml 深孔板中，加入 500 μ l Bind Beads GE。
2. 配制合适浓度的琼脂糖凝胶，电泳分离 DNA 片段。当 DNA 片段分离后，把凝胶放置于紫外灯下，快速切下含目的 DNA 片段的凝胶，并尽量去除多余的凝胶。
3. 转移小于 250mg 的凝胶块至装有磁珠的 96 孔板中。55~60 $^{\circ}$ C 水浴 10~15 分钟让凝胶块完全溶解，800~1,200rpm 振荡混匀 3 分钟。
4. 转移至 96 孔磁力架上吸附 5~10 分钟。将磁力架和 96 孔板扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。【在反转倒废液时，让磁力架和 96 孔板紧扣一起不要松动，以防止磁珠的丢失，废液倒完后，反扣于吸水纸上吸尽孔口的残液，不要让溶液回流到孔中】
5. 加入 300 μ l Buffer DW1，1,000~1,200rpm 振荡混匀 30~60 秒。吸磁 3 分钟后，倒弃废液，反扣于一叠吸水纸 1 分钟吸尽残液。
6. 加入 600 μ l 75%乙醇至孔中。1,000~1,200rpm 振荡混匀 30~60 秒。吸磁 1 分钟后，倒弃废液。
7. 加入 600 μ l 75%乙醇至孔中。1,000~1,200rpm 振荡混匀 30~60 秒。吸磁 1 分钟后，倒弃废液。然后反扣于一叠吸水纸 3 分钟吸尽残液，可轻轻拍打几次让残液全部去除。
8. 正放 96 孔板，50~55 度干燥 6~10 分钟。
9. 加入 30~50 μ l Elution Buffer 至孔中。1,000~1,200rpm 振荡混匀 5~10 分钟珠。
10. 转移至磁力架上吸附 2 分钟，把 DNA 转移至新的板中。

常见问题回答

该列表可能有利于解决提取过程所碰到的问题。Magen 的技术人员也可以随时为您提供服务，若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽能力为您排忧解难。

现象	原因及解决方法
回收效率低	
凝胶块太多	减少凝胶块的体积，或增加 Buffer GDP 的用量
凝胶没有完全溶解	加入 Buffer GDP 后，50-55°C 水浴 7-12 分钟，让凝胶充分溶解。
洗脱液体积太小	加入灭菌水的体积不能太少。
回收后出现杂带	
降低熔胶温度	由于模板对温度比较敏感，杂带有可能是单链的 DNA。降低熔胶温度至 45-50°C。
下游应用不理想	
盐污染	清洗磁珠时，磁珠要充分打散
乙醇污染	延长干燥时间
紫外曝光时间太长	DNA 在紫外灯下曝光时间不要超过 20 秒
A260/230 太高	Buffer GDP 溶液中的异硫氰酸胍在 A230 中有较高的吸收峰。使用该产品，A260/230 小于 1.0。实验表明，该产品得到的 DNA 不会影响下游的运用，包括测序，连接，定量 PCR，PCR，酶切等。

若以上的解答还是无法解决您的问题，请您联系我们。