



08-06

DNA Fragment Purification Kit
MagExtractor[®]
-PCR & Gel Clean up-

(Code No. : NPK – 600, NPK-601)

使用说明书

科研用

TOYOBO CO., LTD. Life Science Department

OSAKA JAPAN

目 录

[1] 前言	1
[2] 纯化流程	2
[3] 试剂盒中所包含的物品	2
[4] 试剂盒以外所需要的其他物品	3
[5] 回收DNA溶液	3
[6] 回收琼脂糖凝胶	5
[7] 疑难解答	8

【 注意 】

本试剂盒中所包含的都是研究用试剂。请不要用于诊断，临床等场合。在使用本试剂盒的时候，请严格遵守实验室的基本注意事项，注意安全。由于本试剂盒内含有对人体有害的试剂，所以请务必严格遵守各试剂的相关使用说明书，按要求使用保护罩等防护措施。

[1] 前言

MagExtractor - PCR & Gel Clean up-利用在Chaotropic（盐）试剂存在的情况下，核酸能吸附在硅胶上的特性¹⁾，用于手动法对DNA片段进行纯化。本试剂盒采用磁硅胶粒子，若使用磁性台架，则能最大限度地减少复杂的离心操作，能够快速地的纯化DNA片段。

1) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 76(2) 615-619(1979)

特征

- 从 DNA 溶液（约 100 μ l），以及 TAE • TBE 琼脂糖凝胶（约 0.3g）中，能够以平均回收率 60~70% 比例回收 DNA 片段（约 100bp~50kbp）。
 - 能够在 5 分钟之内从 DNA 溶液中，或者在 15 分钟之内从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段。
 - 由于在室温下琼脂糖凝胶可以被融解，因此无需进行加热反应。
- * 要彻底去除混杂在回收液中的乙醇时则需要加热处理（55℃）。

试剂盒的用途

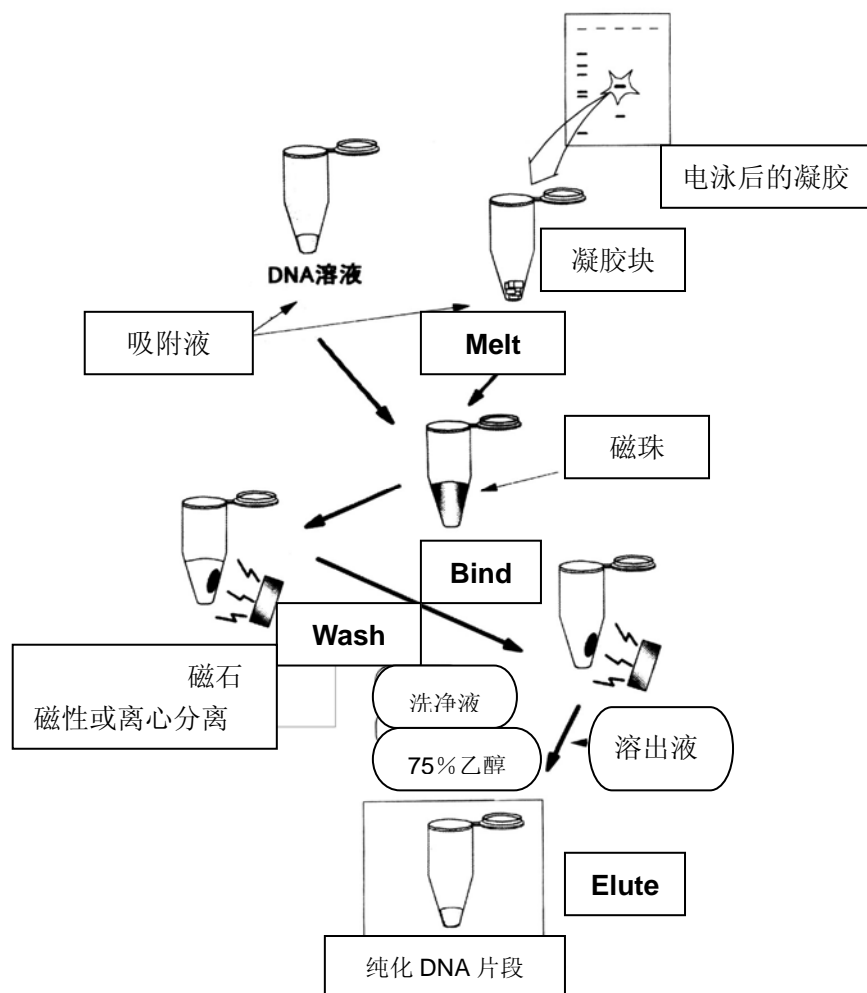
- 脱盐，去除 dNTPs。
- 去除引物。
- 去除酶（碱性磷酸酶等）。
- 从电泳后的琼脂糖凝胶块中回收 DNA。

回收的 DNA 的用途

- RI.Non-RI 测序反应
- 限制酶反应
- 标记反应
- 杂交反应
- 连接反应
- 转化反应
- 扩增反应

[2] 纯化流程

下图显示为使用 MagExtractor-PCR &Gel Clean up-时的纯化流程。



[3] 试剂盒中所包含的物品

本试剂盒中包含以下试剂。（50 次份）

	试剂量	保存条件
吸附液*	22ml	避光室温保存
洗净液*	33ml	室温保存
磁珠	1.8ml	室温保存

*吸附液，洗净液在低温情况下会析出结晶。请一边用手捂暖，一边将其倒转混合让结晶溶解后使用。另外，吸附液及洗净液内含有蛋白变性剂。在使用时务必注意，万一沾到身体，请立刻用清水冲洗。

[4] 试剂盒以外所需要的其他物品

1. 试剂

- 灭菌蒸馏水<溶出液>
- 75%乙醇<洗净用>

2. 器具，器材

- 1.5ml 小型试管用磁性台架
 - 简易台式离心机
 - 漩涡混合器
 - Heat Block 55°C（用于在需要去除混于回收液中的乙醇の場合）
- *可使用本公司的磁性台架 Magical Trapper（Code No.: MGS-101）等产品。

[5] 回收 DNA 溶液

1. 前言

- 本操作程序用于从 DNA 溶液（约 100 μ l）中回收 DNA 片段。
- 能够回收的 DNA 大小约为 100bp~50kb。另外，40bp 以下的核酸几乎能够被加以除去。
- 磁珠的最大吸附量为每 30 μ l 磁珠大约吸附 5 μ g。使用时请以 2.5 μ g 左右为参考量。
- 能够从 PCR 反应液，限制酶反应溶液，碱性磷酸酶反应液等各种反应液中回收 DNA。
- 回收后的 DNA，能够用于限制酶处理、测序、连接、标记、杂交等多种反应。

2. 操作程序

DNA溶液（100 μ l）¹⁾

↓ ← 400 μ l 吸附液

↓ ← 30 μ l 磁珠²⁾

↓ 不时用漩涡混合器搅拌，并放置约 1~2min（室温）

B/F（固/液）分离³⁾

↓ ←（600 μ l 洗净液）⁴⁾

↓ 漩涡混合器搅拌 10sec,

B/F分离。³⁾

↓ ←1ml75%乙醇⁴⁾

↓ 漩涡混合器搅拌 10sec,

B/F分离。³⁾

瞬时高速离心，彻底去除上清部分。

（打开小型试管的盖子，55℃下放置 5min，干燥）⁴⁾

↓ ←25~100 μ l 蒸馏水

↓ 漩涡混合器搅拌 10sec,

（在无法充分将粒子分离的情况下，请用 pipetting 来分离粒子。）

↓ 放置 2min

B/F分离，回收上清液。⁵⁾

1) 请尽量不要含矿物油。

2) 使用磁珠前，请彻底悬浊混合后再使用。

3) 将试管放置在磁性台架上，让磁珠靠近磁石，用微量移液器持续去除上清部分。通过乙醇清洗时，可以通过将上清液倒入其他容器进行去除。

B/F 分离时推荐使用对应于微型试管的磁性台架，但也可用简易台式离心机，用大约 6,000r.p.m 程度，5sec.的离心进行分离。g 会根据离心机的转子口径而发生变化，所以请调整转数，使得能更有效地集合粒子，并保证凝结不至于过度。

4) 请参照 3.的表。

5) 回收液中少量混入的磁珠并不会妨碍下一次的反应，但在测定吸附度等场合时，请通过瞬时高速离心除去磁珠。

3. 关于工序的省略，纯化规模

- 洗净工序，加热工序可以省略（请参照下表）

用途	洗净		干燥	备注
	洗净液	75%乙醇溶液		
测序，限制酶反应，连接反应等的前处理	—	1次	—	标准操作程序。回收的核酸能用于 Low Buffer 系列的限制酶切断。
盐的混入会产生影响的场合	—	2次	—	吸附液和洗净液含有高浓度的盐分。
乙醇的混入会产生影响的场合	—	1次 (2次)	55℃， 5min	用于易受乙醇影响的前处理。
要去除混入的酶的场合	1次	1次 (2次)	—	用于去除碱性磷酸酶等。
要通过吸光度来准确定量核酸浓度的场合	1次	2次	—	吸附液内含有能吸收紫外线的物质。

- 根据 DNA 溶液的量，可以按比例减少本试剂盒中附带的吸附液、洗净液和磁珠的使用量。此时，无需减少 75% 乙醇溶液的使用量。

[6] 回收琼脂糖凝胶

1. 前言

- 本操作程序适用于从 TAE 或者 TBE 琼脂糖凝胶（约 0.3g）中回收 DNA 片段。本操作程序是以琼脂糖浓度 2% 以下的凝胶为对象。要使用 2% 以上的凝胶时，推荐所使用凝胶的量少于 0.3g。另外，本操作程序不需要使用特殊的低熔点琼脂糖凝胶。
- 能够回收的 DNA 大小约为 100bp~50kbp。
- 回收后的 DNA 主要用于连接反应、标记、测序等反应。

2. 操作程序

琼脂糖凝胶电泳，溴化乙锭染色。

↓

在 UV 照射下 (Long wave)，为了使得目标条带尽可能地变小，使用切割刀或手术刀等进行切开。

↓

把切开的琼脂糖切细，放到 1.5ml 小型试管中。(此时称得重量，如果大于 0.3g 则分几次进行。)¹⁾

↓ ←400 μ l 吸附液

在凝胶完全溶解之前，将其放置在室温中，并不时进行搅拌。²⁾

↓ ←30 μ l 磁珠³⁾

↓ 经常用漩涡混合器搅拌，并放置 2min (室温)，

B/F 分离。⁴⁾

↓ ←600 μ l 洗净液

↓ 漩涡混合器搅拌 10sec，

B/F 分离。⁴⁾

↓ ←1ml 75% 乙醇溶液⁵⁾

↓ 漩涡混合器搅拌 10sec，

B/F 分离。⁴⁾

瞬时高速离心，彻底去除上清部分。

(打开微型试管的盖子，55°C 下放置 5min，干燥)⁵⁾

↓ ←25~100 μ l 蒸馏水

↓ 漩涡混合器搅拌 10sec

(在无法充分分开粒子的情况下，请用 pipetting 来分散粒子。)

↓ 放置 2min

B/F 分离，回收上清液⁶⁾

1) 将琼脂糖凝胶制成切片，以利于溶解。

2) 如果想要快速溶解琼脂糖凝胶或凝胶难以溶解时，请加温至 55°C 5min。

3) 使用磁珠前，请彻底混合后再使用。

- 4) 将试管放置在磁性台架上,把磁珠挪近磁石,用微量移液器持续去除上清部分。要洗净乙醇,也可以通过将上清液倒入其他容器来去除。B/F分离时推荐使用对应于微型试管的磁性台架,但也可使用简易台式离心机,用大约 6,000r.p.m 程度,5sec.的离心进行分离。g 会根据离心机的转子口径而发生变化,故请调整旋转数,使得更有效地集合粒子,并保证凝结不至于过度。
- 5) 请参照 3.的表。
- 6) 回收液中混入少量磁珠并不会妨碍下一次的反应,但在测定吸附度等场合时,请通过瞬时高速离心除去磁珠。

3. 关于工序的省略,纯化规模

- 洗净工序,加热工序可以省略(请参照下表)

用途	洗净		干燥	备注
	洗净液 *	75%乙醇 溶液		
连接反应,测序等	1次	1次	—	标准操作程序。
盐的混入会产生影响的场合	1次	2次	—	吸附液和洗净液中含有高浓度的盐分。
乙醇的混入会产生影响的场合	1次	1次(2次)	55℃, 5min	用于容易受乙醇影响的前处理。
要通过吸光度来准确定量核酸浓度的场合	1次	2次	—	吸附液内含有吸收紫外线的物质。

*从琼脂糖凝胶中回收核酸时,必须用洗净液清洗。

- 根据 DNA 溶液的量,可以按比例减少本试剂盒中附带的吸附液、洗净液和磁珠的使用量。此时,无需减少 75%乙醇溶液的使用量。

[7] 疑难解答

1. 回收量低

原因	对策
去除乙醇不彻底	瞬时高速离心后，请仔细去除 75%乙醇溶液。
溶出不充分	通过 10mM Tris-HCl (pH8.0)，或者 TE buffer 能够提高溶出的效率。另外，如果加温至 55℃ 保持 2min 能够更加有效地提高溶出效率。
吸附时间不合适	如果吸附过剩，回收量则会变少。最恰当的吸附时间是，对于 DNA 溶液为 1~2min，对于凝胶则为 2min。
溶出时的搅拌不充分	溶出时，如果磁珠的混合不充分，回收量会减少。在瞬时高速离心后，磁珠会在底部结块，请仔细将其散开。特别是在从琼脂糖凝胶中进行纯化的时候，结块的磁珠会比较难以重新散开。
琼脂糖凝胶的量大于 0.3g	请减少琼脂糖凝胶的量。
使用 2% 以上的琼脂糖	请减少琼脂糖凝胶的量。
没有用洗净液清洗	从琼脂糖凝胶中回收 DNA 时，请务必先用洗净液清洗。

2. 回收的核酸的吸光度不准确

原因	对策
清洗不充分	吸附液中含有吸收紫外线的物质。要对回收的核酸定量，请用洗净液以及 75%乙醇溶液来清洗。
混入了吸附液	吸附液中含有吸收紫外线的物质。请仔细去除吸附液。用面纸等擦拭试管的盖子上沾有的吸附液，可以有效改善状况。

3. 回收后的核酸不能良好地进行反应

原因	对策
盐阻碍了反应	请添加两次 75% 乙醇溶液进行清洗的工序。吸附液和洗净液都含有高浓度的盐分。
乙醇阻碍了反应	请按照操作程序，对乙醇进行干燥处理。
酶未能完全去除	要去除反应液中的碱性磷酸酶等酶，请用洗净液以及 75% 乙醇溶液进行清洗。
反应用的酶过少	从琼脂糖凝胶中回收核酸时，反应用的酶量应比通常要多，这样就能得到准确良好的结果。
使用的琼脂糖级别不够	请使用高级别的琼脂糖。
从琼脂糖凝胶中分离条带时，受到的紫外线照射过多	请用 Long wave (365nm 附近) 的紫外线来进行切片工作。

[制造 • 销售商]

东洋纺（上海）生物科技有限公司

上海市浦东新区张杨路 188 号汤臣商务中心 C 座 310 室

邮编：200122

交货期限 • 订货相关咨询

Tel:021-5879-4900 Fax:021-5879-4901

E-Mail:sales@bio-toyobo.cn

产品内容 • 技术相关咨询

Tel:021-5879-4142 Fax:021-5879-5259

E-Mail:tech@bio-toyobo.cn

<http://www.bio-toyobo.cn>

代理商资料：