**Blue pippin全自动核酸电泳和片段回收系统**

**注意事项及简易操作手册**

一．注意事项：

1. DNA marker和Loading solution需要提前从冰箱中拿出，放到室温下。
2. 样品准备：

A． DNA样品的离子强度要比缓冲液的低，TE或水溶解；

B． DNA样品是去蛋白的；

C． 确认DNA片段大小及回收范围。

1. 每次实验前，需要进行光学校正，blue pippin 是0.6。
2. 程序编辑时，选择合适的预制胶和回收程序，不能出现warning，若出现，需要修改相关参数，否则程序无法运行。
3. 预制胶需要检查有无断裂，气泡要全部赶走。
4. 电流连续性检查，若分离泳道失败，该泳道不能用了；若洗提泳道失败，有两种处理方式：a. 重新加40ul新鲜缓冲液到洗提孔，再test；b. 该泳道可以用来跑外标marker。
5. 30ul DNA+10ul loading solution混匀震荡离心，若为外标marker，需要单独占一个泳道，即加40ulmarker。
6. 加样时枪头在液面以下，不要用枪头划到预制胶。

Sage Science Pippin简易操作手册

一、实验前准备

1．样品处理：DNA样品的离子强度要比缓冲液的低（TE或ddH2O溶解），DNA样品是去蛋白的，打断的

2. 30ulDNA样品+10ul上样缓冲液，混匀震荡离心

3 确认DNA片段大小及回收范围

4 缓冲液要提前半小时放到室温下，以免影响电流的连续性

二、编程

1. 根据所需目的片段大小选择预制胶种类，例如，100-600bp用2%agarose+V1
2. 小片段选择内标internal standards，大片段选择外标
3. 设置回收方式和片段区域大小，设置运行时间，默认选择“回收完成后终止”。

三、光学校正CALIBRATE（Pippin Prep是0.8，blue pippin 是0.6）

1. 将光学校正板黑色一面朝下，放到泳道卡槽内，点击“CALIBRATION”。
2. 每次更换预制胶种类时都要校正。

四、准备预制胶

1 检查预制胶

a 检查预制胶中缓冲液量，不足加满。

b 检查凝胶柱是否断裂，若断裂该泳道不能用

c 检查是否有气泡

2 准备上样

a 排除回收孔后面的气泡

b 把预制胶放到检测平台上，左侧向下倾斜，防止回收孔后面的气泡回流

c 撕掉上样孔和回收孔的密封条

d 清空回收孔中的缓冲液 65ul, 加入40ul的新鲜缓冲液

e 用胶带封闭回收孔，防止回收过程中，样品溢出

f 检查样品孔的缓冲液水平（不足时，加满）70ul

3 连续性检查TEST（测试电流。连续性跟温度有关系，所以缓冲液要提前从冰箱中拿出放置在室温下）

五、上样

1. 检查样品孔的缓冲液水平，不足时加满，共70ul
2. 吸掉40ul 缓冲液，加入40ul样品，合上盖。

内标：样品30ul DNA 加10ul loading solution (无参考泳道)

外标：样品30ul DNA 加10ul loading solution

marker: 40ul(参考泳道)

六、运行

点击START

七、回收

撕掉胶带，用移液枪从回收孔内吸取回收样品。

八、关机SHUTDOWN，两个电源插头拔掉