

聚丙烯酰胺凝胶DNA回收试剂盒

KD503 50次

试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次
平衡液	室温	5ml
Binding Buffer	室温	40ml 第一次使用前按说明加入指定量的乙醇
漂洗液 WB	室温	13ml 第一次使用前按说明加入指定量的乙醇
Diffusion Buffer	室温	30 ml
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml
吸附柱 EC 和收集管 (2ml)	室温	50 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 所有的溶液应该是澄清的, 如果环境温度低时溶液可能形成沉淀, 可在 37°C 水浴加热几分钟, 即可恢复澄清, 使用前应该恢复到室温。
2. 储存于低温(4°C 或者 - 20°C) 会造成溶液沉淀, 影响使用效果, 因此运输和储存均在室温下(15°C-25°C)。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

产品介绍:

本试剂盒采用新型硅基质膜离心柱及特殊的缓冲液系统, 可从聚丙烯酰胺凝胶中简捷高效回收 20bp-500bp 的短片段 DNA 片段, 回收效率可高达 85%。并可最大限度去除杂质, 获得高纯度的 DNA, 所得到的 DNA 可直接用于酶切、连接、测序等后续分子生物学试验。

产品特点:

4. 适用范围广泛，可以回收 20bp-2kb 的单链或者双链 DNA。
5. 使用了优质结合液，不含传统结合液的碘化钠和高氯酸盐，不抑制回收后酶切、连接克隆等下游反应。
6. 独特的配方保证了该试剂盒比一般试剂盒回收效率大大提高。
7. 快速、方便离心柱型，不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀。

注意事项

8. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到 13,000rpm 的传统台式离心机。
9. 结合液中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要立即用大量清水或者生理盐水冲洗。
10. 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。
11. 切胶时，紫外照射时间应尽量短，以免对 DNA 造成损伤。也可以选择可见光染料染色后在可见光下切胶会避免紫外对 DNA 损伤。
12. 回收率与片段大小、凝胶浓度、初始 DNA 量和洗脱体积有关。

关于平衡液的使用

1. 介绍：核酸吸附硅胶膜柱子长期放置过程中会同空气中的电荷/尘埃发生反应而影响其核酸的结合能力。硅胶柱经平衡液预处理后可大大减少柱子中硅胶膜的憎水基团，提高核酸的结合能力。从而提高硅胶柱子回收效率或者产量。平衡液是强碱性溶液，若不小心碰到，请用大量自来水清洗。用完后需盖紧瓶盖，以免接触空气。室温保存。在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至 37°C 使沉淀完全消失。
2. 使用方法：取一个新的硅胶膜吸附柱子装在收集管中，吸取 100 μ l 的平衡液至柱子中。13000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中废液，将吸附柱子重新放回收集管。此时平衡液预处理柱子完毕。接后续的操作步骤。

操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

⇒ 第一次使用前请先在 Binding Buffer，漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，充分混匀。

1. 切取含 DNA 片段的 PAGE 凝胶 (100 mg 左右, 尽可能多地把多余的胶切除, 否则会影响回收效率), 放入 1.5 mL 离心管中, 用移液枪头尽可能捣碎 (最好先在酒精灯上将枪头的口烧密闭再用于捣碎), 捣得越细越好。
2. 向凝胶中加入 1-2 倍体积的 Diffusion Buffer (如 100mg 凝胶加入 100-200 μ l Diffusion Buffer), 55 $^{\circ}$ C 温浴 30 分钟-2 小时, 期间每 15 分钟涡旋震荡混匀, 促进胶中 DNA 扩散到溶液中。一般来说, 回收片段越大, DNA 扩散需要的时间越长, 100bp 左右的 DNA 片段温浴 30 分钟就可以 (时间长些也不影响回收效果); 如果回收 500bp-1000bp 的 DNA 片段, 可以将温浴时间延长 3-5 个小时。也可以 37 $^{\circ}$ C 温浴 12-16 小时过夜。
3. 12,000rpm 离心 5 分钟。小心取上清转入新的离心管。记录上清体积。
4. 加入 9 倍上清体积的 Binding Buffer, 混匀。回收片段 > 100bp 时, 加 5 倍上清体积的 Binding Buffer 即可。
5. 平衡液预处理吸附柱: 使用平衡液预处理硅胶膜吸附柱为必做步骤, 具体方法参见前文“关于平衡液的使用”
6. 将上一步所得溶液加入吸附柱 EC 中 (吸附柱放入收集管中), 室温放置 1 分钟, 12,000rpm 离心 30-60 秒, 倒掉收集管中的废液。吸附柱最大容积为 750 μ l, 若溶液体积大于 750 μ l, 可分批加入。
7. 加入 600 μ l 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
8. 重复步骤 7 一遍。
9. 将吸附柱 EC 放回空收集管中, 13,000rpm 离心 2 分钟, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 取出吸附柱 EC, 放入一个干净的离心管中, 在吸附膜的中间部位加 30-50 μ l 洗脱缓冲液 EB, 室温放置 2 分钟, 12,000rpm 离心 1 分钟。如果需要较高浓度核酸, 可将得到的溶液重新加入吸附柱中, 离心 1 分钟。洗脱体积越大, 洗脱效率越高。如果需要核酸浓度较高, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小体积不应少于 25 μ l, 体积过小降低核酸洗脱效率, 减少产量。