AipBest 琼脂糖凝胶 DNA 纯化回收试剂盒(离心柱型)

AipBest Agarose Gel DNA Purification Kit(Centrifugal Column)

使 用 说 明 书

◆目录号：DR201

◆试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	100 次 (DR201-02)	200 次 (DR201-03)
平衡液	室温	10mL	20mL
溶胶液 DD	室温	75mL	150mL
漂洗液 WB	室温	25mL	50mL
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
洗脱缓冲液 EB	室温	15mL	15mL
吸附柱 EC 和收集管(2mL)	室温	100 套	200 套

◆适用范围：适用于琼脂糖凝胶 DNA 回收。

◆产品储存：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，此时不应该直接使用，可在 37℃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℃或者－20℃)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℃-25℃)进行。
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：在高离序盐存在的情况下，DNA 片断选择性的吸附于离心柱内的硅基质膜上，再通过一系列快速的漂洗－离心的步骤，漂洗液将引物、核苷酸、蛋白、酶等杂质去除，最后低盐、高 pH 值的洗脱缓冲液将纯净 DNA 从硅基质膜上洗脱。

◆产品特点：

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口世界著名公司特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。

2. 使用了优质溶胶液，不含传统溶胶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。
3. 溶胶液加酚红调制成为了黄颜色，便于观察溶胶效果和监测 pH 值变化从而达到最佳结合效果，大大提高回收效率。
4. 改进的溶胶液配方，大大提高了缓冲能力和稳定性，即使样品变化很大也能将 PH 缓冲在最佳结合范围内。
5. 快速便捷，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：

1. 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，如 Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
2. 溶胶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。
3. 回收纯化的 DNA 片段一般在 100bp 到 40kb 之间，过长、过短片段的回收效率迅速降低。
4. 回收 DNA 的量和起始 DNA 的量、洗脱体积、DNA 片断大小有关。一般 1-15μg，100bp-5kb 的 DNA 片段，回收率可高达 85％。
5. 切胶回收时，紫外灯观察对 DNA 片段有损坏作用，应该尽可能使用能量低的长波紫外线，并且尽可能的缩短紫外线下处理的时间。
6. 洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保 pH 大于 7.5，pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱，DNA 片段应该保存在－20℃。DNA 片段如果需要长期保存，可以用 TE 缓冲液洗脱(10mM Tris-HCl，1mM EDTA，pH 8.0)，但是 EDTA 可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。

◆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℃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 100μL 的平衡液至柱子中。13000rpm 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：

提示：第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！

1. 在长波紫外灯下，用干净刀片将所需回收的 DNA 条带切下，尽量切除不含 DNA 的凝胶，得到凝胶体积越小越好。
2. 将切下的含有 DNA 条带凝胶放入 1.5mL 离心管，称重。

   注：先称一个空 1.5mL 离心管重量，然后放入凝胶块后再称一次，两次重量相减，得到凝胶的重量。
3. 加 3 倍体积溶胶液 DD。

   注：如果凝胶重为 100mg，其体积可视为 100μL，则加入 300μL 溶胶液。

   注：如果凝胶浓度大于 2%，应加入 6 倍体积溶胶液。
4. 56℃水浴放置 10 分钟(或直至胶完全溶解)。每 2-3 分钟涡旋震荡一次帮助加速溶解。
5. **可选步骤，一般不需要：**每 100mg 最初的凝胶重量加入 150μL 的异丙醇，震荡混匀。

   注：有时候加入异丙醇可以提高回收率，加入后不要离心。回收大于 4Kb 的片段时，不加入异丙醇，加入有时反而可能降低回收效率。

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。

   注：如果总体积超过 750μL，可分两次将溶液加入同一个吸附柱 EC 中。

   注：过滤下的溶胶液和收集管内残存的强碱性平衡液混合后，溶胶液可能会从黄色变成橘红甚至紫色，此为酚红 PH 指示剂碱性条件下的正常颜色变化。
7. 加入 600μL 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. 加入 600μL 漂洗液 WB，12,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
9. 将吸附柱 EC 放回空收集管中，12,000rpm 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 50μL 洗脱缓冲液 EB(洗脱缓冲液事先在 65-70℃水浴中加热效果更好)，室温放置 2 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。如果需要较多量 DNA，可将得到的溶液重新加入吸附柱中，离心 1 分钟。

注：洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要 DNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于 25μL，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少产量。

==========

扫码关注我们