

AipBest 聚丙烯酰胺凝胶 DNA 回收试剂盒(离心柱型) AipBest PAGE DNA Extraction Kit(Centrifugal Column)

使用说明书

◆目录号：DR205

◆试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	50 次(DR205-01)
平衡液	室温	5mL
Binding Buffer	室温	40mL 第一次使用前按说明加指定量异丙醇
Diffusion Buffer	室温	30mL
漂洗液 WB	室温	13mL 第一次使用前按说明加指定量乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15mL
吸附柱 EC 和 收集管(2mL)	室温	50 套

◆产品储存：按照指定温度储存，12 个月内不影响使用效果。

◆储存事项：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：

1. 适用范围广泛，可以回收 20bp-2kb 的单链或者双链 DNA。
2. 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。
3. 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。
4. 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。
2. 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。

3. 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。
4. 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。
5. 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℃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 的平衡缓冲液至柱子中。13,000rpm 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 Binding Buffer 瓶中加入指定量**异丙醇**！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. 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 1.5mL 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 100-200μL Diffusion Buffer)，55℃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。

注：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℃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。

注：回收片段>100bp 时，加 5 倍上清体积的 Binding Buffer 即可。

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”

5. 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：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。

6. 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。
7. 重复步骤 6 一遍。
8. 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。
9. 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。

注：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。

=====



扫码关注我们