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

◆版本号：240220
◆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)	100 次 (DR205-02)
平衡液	室温	5mL	10mL
Diffusion Buffer	室温	30mL	60mL
Binding Buffer	室温	40mL	80mL
		第一次使用前按说明加指定量异丙醇	
漂洗液 WB	室温	13mL	26mL
		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	室温	50 套	100 套

◆**适用范围：**适用于从聚丙烯酰胺凝胶中 DNA 的纯化回收。

◆**产品储存：**按照指定温度储存，12 个月内不影响使用效果。

◆**产品介绍：**本试剂盒采用内硅基质膜吸附柱技术，配合爱普科学特殊的结合缓冲液系统，可从聚丙烯酰胺凝胶中便捷高效回收 20-500bp 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，回收纯化的 DNA 纯度高、浓度高、完整性好。所得到的 DNA 可直接用于酶切、连接、测序等相关分子生物学试验。

◆**产品特点：**

1. 操作简单，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。
2. 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。
3. 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。
4. 功能强大，适用范围广泛，可以回收 20bp-2kb 的单链或双链 DNA。独特的溶液配方，极大的提高了回收效率，回收效率可高达 85%，回收纯化的 DNA 纯度高、浓度高、完整性好。

◆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 12,000rpm 的传统台式离心机。
2. 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。
3. 结合液中含有刺激性化合物，操作时请穿实验服并佩戴一次性乳胶手套，实验操作中应避免沾染皮肤，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。
4. 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。
5. 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。
6. 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。12,000rpm 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 瓶中按照该组分标签上的指示，加入指定量**异丙醇！**第一次使用前请先在漂洗液 WB 中按照该组分标签上的指示，加入指定量无水乙醇！并打钩做好标记避免重复加入！

1. 切取含 DNA 片段的 PAGE 凝胶(100mg 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 分钟涡旋震荡混匀一次，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 分钟就即可(时间长些也不影响回收效果)；如果回收 500-1000bp 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，小心取上清液转入新的离心管中，并记录上清液体积。
4. 加入 9 倍上清液体积的 Binding Buffer，充分混匀。

   注：回收片段>100bp 时，加 5 倍上清液体积的 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 750μL，若溶液体积大于 750μL，可分批加入。
6. 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。
7. 重复操作步骤 6 一遍。
8. 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。
9. 取出吸附柱 EC，放入一个新的无酶离心管中，在吸附膜的中间部位加入 30-50μL 洗脱缓冲液 EB，室温放置 2 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。收集得到的 DNA。DNA 可以存放在-20℃，如果要长时间存放，可以放置在-70℃保存。

   注：洗脱体积越大，洗脱效率越高。如果需要较高浓度 DNA，可将第一次得到的洗脱液重新加入吸附柱中，重新洗脱一遍。如果需要提高 DNA 浓度，可适当减少洗脱体积，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