

快捷型通用 DNA 纯化回收试剂盒

货号: NG205S 100 次

NG205M 200 次

储存条件: 室温保存,有效期一年。

| 试剂盒组成 | 保存 | 100 次 | 200 次 |
|-----------|----|-----------------|--------|
| 溶胶液 GD | 室温 | 50 ml | 100 ml |
| 漂洗液 WB | 室温 | 25 ml | 50 ml |
| | | 第一次使用前按说明加指定量乙醇 | |
| 漂洗液 PE | 室温 | 50 ml | 100 ml |
| 洗脱缓冲液 EB | 室温 | 15 ml | 15 ml |
| 吸附柱 EC | 室温 | 100 个 | 200 个 |
| 收集管 (2ml) | 室温 | 100 个 | 200 个 |

产品介绍:

在高离子盐存在的情况下, DNA 片段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特制吸附膜, 柱与柱之间吸附量差异极小, 可重复性好。
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. 溶胶液加试剂调制成为了黄颜色, 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、方便, 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, 离心机转速需达到13,000 rpm。
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10kb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片段大小有关。一般1-15 μg , 100 bp-5 kb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 $^{\circ}\text{C}$ 。DNA片段如果需要长期保存, 可以用TE缓冲液洗脱 (10 mM Tris-HCl, 1 mM 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 (可选步骤)

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 $^{\circ}\text{C}$ 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 μl 的平衡液至柱子中。12000 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

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。

一、琼脂糖凝胶回收

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。
2. 将切下的含有 DNA 条带凝胶放入 1.5 ml 离心管，称重。
先称一个空 1.5 ml 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 1 倍体积溶胶液 GD。
如果凝胶重为 100 mg，其体积可视为 100 μ l，则加入 100 μ l 溶胶液。
如果凝胶浓度大于 2% 或者 <150 bp，应加入 2-3 倍体积溶胶液。
4. 56°C 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：每 100 mg 最初的凝胶重量加入 150 μ l 的异丙醇，震荡混匀。
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。

(可选步骤) 平衡液预处理吸附柱：使用平衡液预处理硅胶膜吸附柱，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，12,000 rpm 离心 30-60 秒，倒掉收集管中的废液。
如果总体积超过 750 μ l，可分两次将溶液加入同一个吸附柱 EC 中。
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 600 μ l 漂洗液 WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
8. 加入 600 μ l 漂洗液 WB，12,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
9. 将吸附柱 EC 放回空收集管中，12,000 rpm 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 50 μ l 洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 65-70 °C 水浴中加热效果更好），室温放置 2 分钟，12,000 rpm 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。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 25 μ l，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少产量。

二、PCR 产物等液体样本 DNA 回收

1. 每 100 μ l PCR 扩增后体系或者酶切后体系加入 200 μ l 溶胶液 GD，充分混匀。（如果初始体系小于 100 μ l，请事先用双蒸水调整至 100 μ l）。

(可选步骤) 平衡液预处理吸附柱：使用平衡液预处理硅胶膜吸附柱，具体方法参见前文“关于平衡液的使用”

2. 将上一步所得溶液加入吸附柱 EC 中（吸附柱放入收集管中），室温放置一分钟，12,000 rpm 离心 30-60 秒，倒掉收集管中的废液。

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

可选步骤：加入 500 μ l 漂洗液 PE，12,000rpm 离心 30-60 秒，弃废液。

3. 加入 600 μ l 漂洗液 WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
4. 加入 600 μ l 漂洗液 WB，12,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
5. 将吸附柱 EC 放回空收集管中，12,000 rpm 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。
6. 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 50 μ l 洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 65-70°C 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。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 35 μ l，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少产量。