



# 琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒

## 产品信息:

试剂盒组成	保存	DH101-01	DH101-02
		100 次	100 次×2
溶胶液 DD	室温	50ml	100ml
漂洗液 WB	室温	25ml 第一次使用前加入 100ml 无水乙醇	25ml×2
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml	10ml×2
吸附柱 EC	室温	100 个	200 个
收集管 (2ml)	室温	100 个	200 个

**保存条件:** 本试剂盒在室温储存 18 个月不影响使用效果。

## 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, 最后用低盐、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。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。

## 注意事项:

- 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。
- 4.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。**
- 5.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降低。
- 6.回收DNA的量和起始DNA的量、洗脱体积、DNA片断大小有关。一般1-20 $\mu$ g，100bp-5kb的DNA片段，回收率可高达85%-95%。
- 7.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。
- 8.pH值 $\leq$ 7.5时，吸附膜吸附DNA的效率最高。如果切下来的凝胶中含有电泳缓冲液太多，造成溶胶后溶胶液pH偏高，会导致回收率降低。溶胶后，如果溶胶液依旧保持黄色，说明pH正常；如果变成橘红色或者淡紫色，说明pH偏高，可在胶充分溶解后加5-10 $\mu$ l 3M醋酸钠（pH5.2）将pH值调到5-7（黄色）。
- 9.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 $^{\circ}$ C。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。

**自备试剂：**无水乙醇

#### **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。
- 3.加 3 倍体积溶胶液 DD。**(凝胶重为 100mg，则加入 300 $\mu$ l 溶胶液)如果凝胶浓度大于 2%，应加入 6 倍体积溶胶液。**
- 4.56 $^{\circ}$ C 水浴放置 10 min（或直至胶完全溶解）。每 2-3 min 涡旋震荡一次加速溶解。
- 5.**可选：**每 100mg 最初的凝胶重量加入 150 $\mu$ l 的异丙醇，震荡混匀。
- 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 min，12,000rpm 离心 30-60 sec，倒掉收集管中的废液。
- 7.加入 500 $\mu$ l 漂洗液 WB **(请先检查是否已加入无水乙醇!)**，12,000rpm 离心 30 sec，弃掉废液。

8. 重复操作步骤 7。
9. 将吸附柱 EC 放回空收集管中，12,000rpm 离心 2 min，尽量去除漂洗液，以免漂洗液中残留的乙醇抑制下游反应。
- 10 取出吸附柱 EC，放入一个干净的离心管中，室温放置数分钟。
11. 在吸附膜的中间部位滴加洗脱缓冲液 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 min，12,000rpm 离心 1 min。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 min。**(注意：洗脱体积不应小于 30μl，体积过少影响回收效率)**

BM191220