

通用型 DNA 纯化回收试剂盒

货号： NG209S 100 次

NG209M 200 次

试剂盒组成	保存	100 次	200 次
结合液 GMB	室温	100ml	200 ml
漂洗液 PE	室温	50ml	100ml
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	
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

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°C 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°C 或者 -20°C) 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°C-25°C) 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:

在高离序盐存在的条件下, 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、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13,000rpm。
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°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。

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。

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 1.5ml 离心管，称重。
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 倍体积结合液 GMB。
如果凝胶重为 100mg，其体积可视为 100 μ l，则加入 300 μ 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 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 100mg 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。
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。
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。
7. 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。
8. 加入 600 μ l 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 50 μ l 洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 65-70 $^{\circ}$ 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 25 μ l，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少产量。

（二）、以下为 PCR 产物或者酶切片段等 DNA 纯化操作步骤。

1. 每 100 μ l PCR 扩增后体系或者酶切后体系加入 500 μ l 结合液 GMB，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）。
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 去蛋白液 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！），12,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
4. 加入 600 μ l 漂洗液 WB，12,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
5. 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。
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 $^{\circ}$ 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 25 μ l，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少产量。