

快捷型琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒（微柱）

货号： NG206S 50 次
NG206M 200 次

试剂盒组成	保存	50 次	200 次
结合液 DD	室温	30ml	120 ml
漂洗液 WB	室温	15 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	5 ml	10 ml
微量吸附柱 DC	室温	50 个	200 个
收集管（2ml）	室温	50 个	200 个

储存事项:

- 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。
- 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。
- 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:

本品为微量 DNA 浓缩回收的专用试剂盒。适用于微量 DNA 的琼脂糖凝胶 DNA 回收、DNA 样品浓缩等。在高离子盐存在的情况下，DNA 片段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:

- 特殊微量离心柱设计可以最低 10ul 洗脱，保证了回收 DNA 的高浓度。
- 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。
- 独特的溶胶液，将溶胶和结合两种功能统一，
- 溶胶液/结合液调制成了黄色，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。
- 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

注意事项:

- 回收纯化的 DNA 片段一般在 100bp 到 40kb 之间，但是在此范围内，回收效率随着片段长度过长、过短，回收效率迅速降低。
- 回收 DNA 的量和起始 DNA 的量、洗脱体积、DNA 片段大小有关。100bp-5kb 的 DNA 片段，回收率可高达 75% - 95%。预计片段过长，过短，回收率低的情况下，可以选择小体积洗脱（最小不低于 15μl），提高浓度。
- 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。
- 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℃。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，以免多次加入！

- 琼脂糖凝胶 DNA 回收：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。
- 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。
- 加 3 倍体积溶胶液 DD。

如果凝胶重为 100mg，其体积可视为 100μl，则加入 300μl 溶胶液。

如果凝胶浓度大于 2%，应加入 6 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 将上一步所得溶液加入微量离心柱中（吸附柱放入收集管中），室温放置 1 分钟，12,000rpm 离心 30 秒，倒掉收集管中的废液。如果总体积超过 750μl，可分两次将溶液加入同一个微量离心柱中。过滤下的溶胶/结合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。

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. 加入 600μl 漂洗液 WB，12,000rpm 离心 2 分钟，小心取出甩干后的微量离心柱，放入一个干净的离心管。

此步骤将漂洗和空甩干燥离心柱合二为一。将微量离心柱取出时应小心不要让离心柱下缘碰到收集管中的漂洗液废液。以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

8. 小心将移液器吸头对准微量离心柱 吸附膜的中间部位（不要加到管壁上）加（10μl-30μl）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 1 分钟，12,000rpm 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 10ul，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少产量。