

琼脂糖凝胶回收试剂盒

货号: NG202S 100次
NG202M 200次

试剂盒组成	保存	100次	200次
平衡液	室温	10ml	20ml
溶胶液 DD	室温	100ml	200 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	
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:

- 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。使用前应恢复到室温。
- 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。
- 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:

在高离子盐存在的情况下，DNA 片断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:

- 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。
- 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。
- 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。
- 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。
- 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

- 所有的离心步骤均在室温完成，离心机转速需达到13,000rpm。
- 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。
- 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。
- 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%。
- 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°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。

关于平衡液的使用（可选步骤）

- 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°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 μ l 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。

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 倍体积溶胶液 DD。
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。

(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，12,000rpm 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。
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！），12,000rpm 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。

