

操作手册

琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒

Catalog No. TD407- 5 (10 次反应)
TD407-100 (100 次反应)

TD407-50 (50 次反应)
TD407-200 (200 次反应)

特点

- 可在 10 μ l 的少量水中回收到超纯的 DNA，并且对于一系列下游的分子生物实验非常理想。
- 此过程与 TAE 或者 TBE 缓冲的凝胶是兼容的。无需像其它试剂盒那样调整 pH。
- 切下范围在 75bp 到 10kb 之间的 DNA 回收率为 95%。并且不会发生像常在玻璃奶和基于阳离子树脂过程中的 DNA 切变现象。
- 本产品仅供科研使用

组件名称	规格 (50 次反应)	规格 (200 次反应)	保存温度
溶胶液	50 ml	2 X 100 ml	常温
DNA 洗涤液	10 ml	2 X 20 ml	常温
1 号柱	50 个	200 个	常温
收集管	50 个	200 个	常温
操作手册	1 份	1 份	

Ver.1.0.2

凝胶 DNA 回收试剂盒

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

试剂制备

DNA 洗涤液 在使用之前一定要配好，添加好乙醇后在试剂瓶上做好标记!!!

10 次反应的 **DNA 洗涤液** 已经添加乙醇无需添加。

50 次反应的 **DNA 洗涤液** 应添加 40 ml 100%的乙醇到 10ml 的 **DNA 洗涤液**中。

100 次反应的 **DNA 洗涤液** 应添加 60 ml 100%的乙醇到 15ml 的 **DNA 洗涤液**中。

200 次反应的 **DNA 洗涤液**应添加 100ml 100%的乙醇到 25ml 的 **DNA 洗涤液**中。

特性

- **DNA 纯度** – 在水中洗脱的高质量、纯化的 DNA 尤其适用于 DNA 测序，DNA 连接，限制性内切酶消化，DNA 放射性标记等分子生物学实验。
- **DNA 大小** –75 bp 到 10 kb 之间。
- **DNA 回收率** –一般的，可在 10 μ l 的水中洗脱出 5 μ g 的 DNA。对于从 100bp 到 5kb 的 DNA，回收率为 90-95%
- **样品来源** –来自 PCR，限制性内切酶消化，质粒抽提，激酶反应，等的 DNA 和在 TAE 或 TBE 缓冲的琼脂糖凝胶切片中的 DNA。

特点

1. 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。
2. 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。
3. 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。
4. 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。
5. 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。

操作方案

1. 使用刀片或手术刀把 DNA 片段从琼脂糖凝胶上切除下来并且移置到 1.5 ml 小型离心管内。
Note: 从凝胶上切下的琼脂糖尽可能的要少。
2. 将 3 倍体积的 **溶胶液** 添加到每 1 体积从凝胶上切下的琼脂糖切块中。
Example: 对于 100 μ l (mg) 的琼脂糖凝胶切块, 添加 300 μ l 的 ADB 缓冲液。
Note: 如果凝胶浓度大于 2%, 应加入 6 倍体积溶胶液。
3. 在 37-55°C 下温水浴 10 分钟直到凝胶切块完全溶解。
Note: 温度不要超过 60°C。确定凝胶切块完全溶解是很重要的步骤。在温水浴过程中可辅以温和的搅拌有助于凝胶的溶解。
4. 将溶解的琼脂糖切块溶液放到 **1 号柱** 中并把柱套在 **收集管** 里。
5. 在 $\geq 14,000$ rpm 的速度下离心 30-60 秒。去除滤出液。
Note: 柱所能容纳的样品体积为 800 μ l。所以, 如果样品体积超过 800 μ l 时, 柱就要被多次填充和离心。
6. 添加 200 μ l 的 **DNA 洗涤液** 到柱中并且在 $\geq 14,000$ rpm 的速度下离心 30 秒。去除滤出液。
7. 重复第 6 步洗涤步骤。
8. **可选步骤:** 将收集管中的废液倒掉, 并将 **1 号柱** 套回收集管中, 在 14,000 rpm 下额外离心 2 分钟, 尽量除去洗涤液, 以免洗涤液中残留乙醇抑制下游反应。
9. 直接添加 10 μ l (或更多) 的水到柱基质中。将柱套在 1.5 ml 离心管中并且在 $\geq 14,000$ rpm 的速度下离心 30-60 秒来洗脱 DNA。
Note: 从柱中洗脱出的 DNA 产量与 pH 和温度有关。如果水已被使用过, 确保 pH 是 >5.0 。在向柱中加入水后静置 1 分钟可增加较大 (> 6 kb) DNA 的产量。在 60-70°C 的水中洗脱 DNA 可增加较大 DNA (> 10 kb) 的产量
Note: 如果试验需要的话 TE 缓冲液 (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) 或改进的 TE (10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 8.5) 也可用来洗脱。

在水中得到的超纯 DNA 可进行后续试验。