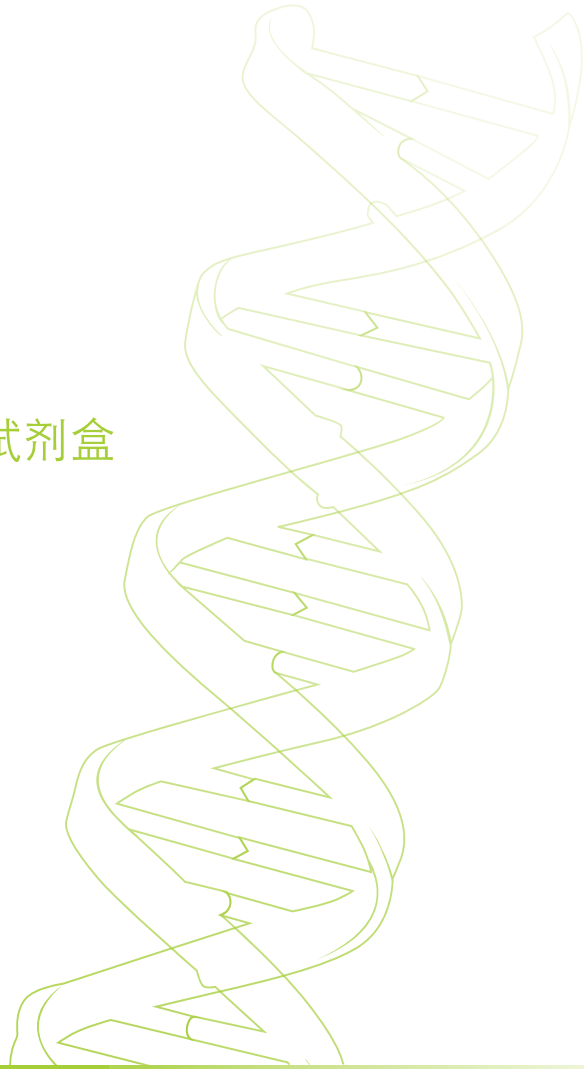


Imagene[®]

琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒 Gel Purification Kit



CODONX
RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒

目录号 DP101

使用说明书

网站: www.codonx.com
咨询电话: 010-56315162
技术支持 QQ: 3090544158

- 1/适用范围
- 2/试剂盒组成、储存、稳定性
- 3/储存事项
- 4/产品介绍
- 5/产品特点
- 6/注意事项
- 7/关于平衡液 BS 的使用
- 8/操作步骤
- 9/常见问题与解决方案

1/适用范围：

适用于琼脂糖凝胶 DNA 回收。

2/产品组成：

试剂盒组成	保存	(DP101-01) 50 次	(DP101-02) 100 次
平衡液 BS	室温	5 mL	10 mL
溶胶液 DD	室温	50 mL	50 mL×2
漂洗液 WB	室温	15 mL (第一次使用前按说明 加指定量乙醇)	25 mL (第一次使用前按说明 加指定量乙醇)
洗脱缓冲液 EB	室温	10 mL	15 mL
吸附柱 EC	室温	50 个	100 个
收集管 CT (2 mL)	室温	50 个	100 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

3/储存事项：

- 1) 本产品运输和储存均在室温（15—25℃）下进行。
- 2) 试剂在低温下可能会出现沉淀，在 37℃ 平衡几分钟即可恢复澄清。使用前应该恢复到室温。
- 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拧紧盖子。

4/产品介绍：

本产品利用 DNA 片段可以选择性的吸附于硅基质膜上的原理，先吸附 DNA，去除杂质，再通过一系列快速的漂洗和离心等步骤，将引物、核苷酸、酶、离子等杂质去除干净，最后使用洗脱缓冲液将 DNA 片段从硅基质膜上洗脱下来，完成回收。

5/产品特点：

- 1) 离心吸附柱内硅基质膜全部采用世界著名公司特制吸附膜，吸附量大，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。
- 2) 使用经过优化的溶胶液，不含碘化钠和高氯酸盐，不会抑制酶切、连接克隆等下游反应。

- 3) 溶胶液加酚红调制成了黄颜色，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。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。

6/注意事项:

- 1) 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到1,3000 rpm的小型台式离心机。
- 2) 溶胶液中含有刺激性化合物，请戴手套操作，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) 适合于100 bp-40 kb DNA片段的回收，片段过长或过短，回收效率迅速降低。
- 4) 回收DNA的量与起始DNA的量、洗脱体积、DNA片段大小有关。一般1-15 μg ，100 bp—5 kb的DNA片段，回收率可高达85%。
- 5) 紫外灯对DNA片段有破坏，切胶回收时，应该尽可能缩短紫外照射的时间。
- 6) 洗脱液缓冲液EB不含有螯合剂EDTA，不会影响下游酶切、连接等反应。也可以使用ddH₂O代替洗脱液缓冲液EB进行洗脱，但应该确保pH大于7.5，pH过低影响洗脱效率。用水洗脱的DNA片段应该保存在-20℃。回收的DNA片段如果需要长期保存，请用TE缓冲液洗脱（10 mM Tris-HCl，1 mM EDTA，pH 8.0），但请注意EDTA可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。

7/关于平衡液 BS 的使用:

- 1) 介绍: 吸附柱 EC 长期放置，可能会同空气中的电荷/尘埃发生反应而影响其 DNA 结合能力，经平衡液 BS 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，从而提高回收效率或者产量。平衡液 BS 是强碱性溶液，避免直接接触，若不小心碰到，请用大量自来水清洗。平衡液 BS 用完后请立即拧紧瓶盖。室温保存过程中，若有沉淀生成，请 37℃ 加热直至沉淀完全消失。
- 2) 使用方法: 将吸附柱 EC 装在收集管 CT 中，加 100 μL 的平衡液 BS 至柱子中。1,3000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管 CT 中废液，将吸附柱 EC 重新放回收集管 CT，进行后续操作。

8/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，并打勾标记，以免多次加入!

- 1) 在长波紫外灯下，用干净刀片将目的 DNA 条带切下，尽量切除不含目的 DNA 的凝胶。
- 2) 将切下的含有 DNA 条带凝胶放入 1.5 mL 离心管，称重。

先称空管，放入凝胶块后再称一次，计算凝胶重量。

3) 向胶块中加入溶胶液 DD，加量如下表：

凝胶浓度	溶胶液 DD 用量
1.0%	3 倍凝胶体积量
1.0%-1.5%	4 倍凝胶体积量
1.5%-2.0%	5 倍凝胶体积量

备注：凝胶的重量换算为凝胶体积。计算体积时，以 1 mg=1 μ L 进行计算。

4) 56 °C 水浴放置 10 分钟（或直至胶完全溶解）。每隔 2-3 分钟震荡加速溶解。

5) 可选：每 100 mg 的凝胶重量加入 150 μ L 的异丙醇，震荡混匀。

备注：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 4 kb 的片段时，不建议加入异丙醇，加入有时反而可能降低回收效率。

平衡液 BS 预处理吸附柱：

使用平衡液 BS 预处理硅胶膜吸附柱为必做步骤，具体方法参见前文“关于平衡液 BS 的使用”。

6) 将溶胶液加入吸附柱 EC（经过平衡液 BS 预处理）中，室温放置 1 分钟，1,2000 rpm 离心 30-60 秒，倒掉收集管 CT 中的废液。如果总体积超过 750 μ L，可分两次加入吸附柱 EC 中。

备注：过滤下的溶胶液和收集管 CT 内残存的强碱性平衡液 BS 接触后，颜色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！），1,2000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。

8) 加入 600 μ L 漂洗液 WB，1,2000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。

9) 将吸附柱 EC 放回收集管 CT 上，1,2000 rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，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，在吸附膜的中间部位加 50 μ L 洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液预先在 65-70 °C 预热，效果更好），室温放置 2 分钟，1,2000 rpm 离心 1 分钟。

备注：如果需要提高 DNA 产量，可将洗脱液重新加入吸附柱 EC 中，离心 1 分钟。洗脱体积越大，洗脱效率越高，但浓度可能降低。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。

9/常见问题与解决方案:

问题	评价及建议
DNA 的收量较低	<ul style="list-style-type: none">a. 胶块体积过大, 每个吸附柱 EC 可承载的容量最好小于 300 mg, 大于 300 mg 的凝胶, 请使用多个吸附柱 EC 进行回收。b. 使用前确认漂洗液 WB 是否加入指定体积的乙醇。c. 溶胶未完全。溶胶时注意观察胶块是否完全融解, 胶块未完全融解会影响回收量。融胶时, 颠倒混匀有助于胶的融解。d. 洗脱前的空离步骤不可忽略, 为除去残留的乙醇, 否则影响洗脱效率。e. 洗脱时洗脱缓冲液 EB 加热以提高洗脱效率。
当 DNA 片段较长 (10kb 以上), 回收率会下降	<ul style="list-style-type: none">a. 适当增加待回收 DNA 样品量。b. 长片段 DNA 不易洗脱下来, 建议加热洗脱缓冲液 EB, 提高回收效率。c. 减少操作中的物理损伤, 混合时动作要轻。



CodonX(China) Biotechnology Co., Ltd

Yizhuang Biomedical Park
Building 6, No.88 6th Kechuang St. Economic-Technological Development Area, Beijing, China
Tel: 010-56315162 www.codonx.com