

柱式PAGE胶DNA回收试剂盒

产品编号	产品名称	包装
D0058S	柱式PAGE胶DNA回收试剂盒	50次

产品简介:

- 碧云天生产的柱式PAGE胶DNA回收试剂盒(DNA PAGE Gel Extraction Kit with Spin Column, or DNA Polyacrylamide Gel Extraction Kit with Spin Column), 是一种基于离心式纯化柱法从PAGE胶中快速、便捷、稳定、高效、高质量地回收DNA片段的试剂盒。
- 聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)常用于小于1kb的DNA片段的分析和分离纯化。PAGE胶DNA电泳的最高分辨率可达1bp, 因而广泛应用于寡核苷酸分离纯化, 特别是引物的分离纯化, 又称PAGE纯化。PAGE纯化也常用于高通量测序时PCR扩增产物的纯化。
- 本试剂盒可用于20~500bp的双链DNA (dsDNA)或20-500nt单链DNA (ssDNA)从变性或非变性PAGE胶中的回收和纯化。DNA片段大小会对回收效率产生影响, 片段过大或过小, 回收效率都会有所降低, DNA片段大小为40-100bp时, 回收效率可达70%左右。
- 本试剂盒采用了一种新型的离子交换柱, 在特定条件下, 使DNA能在离心过柱的瞬间, 结合到DNA纯化柱上, 在一定条件下又能将DNA充分洗脱, 从而实现DNA的快速纯化。无需酚氯仿抽提, 无需酒精沉淀, 通常12个样品只需约20分钟即可完成。
- 本试剂盒纯化所得DNA可直接用于酶切、连接、PCR扩增、测序, PCR, 杂交等后续实验。
- 本试剂盒回收DNA的操作流程如图1所示。含有目标DNA的PAGE胶经研磨、水浴浸泡渗透至扩散液、高速离心取上清、加入结合液吸附至纯化柱、两次洗涤、洗脱液洗脱等一系列步骤, 最终得到高纯度的DNA片段回收产物。

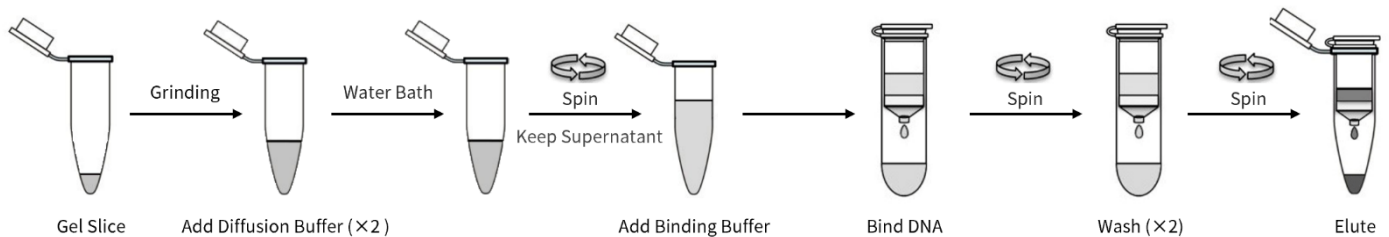


图1. 柱式PAGE胶DNA回收试剂盒(D0058S)操作流程示意图。

- 本试剂盒的一个包装可用于50个DNA样品的PAGE胶回收和纯化。

包装清单:

产品编号	产品名称	包装
D0058S-1	溶液I(扩散液)	32ml
D0058S-2	溶液II(结合液)	38ml
D0058S-3	溶液III(洗涤液)	63ml
D0058S-4	洗脱液	5ml
D0058S-5	纯化柱及废液收集管	50套
D0058S-6	洗脱管	50个
D0058S-7	塑料研磨杵	10个
—	说明书	1份

保存条件:

室温保存, 一年有效。

注意事项:

- 如果希望获得更高的回收效率, 尽可能多地切除不含目标DNA的PAGE胶。
- 用研磨杵尽可能地把胶条磨碎, 以促进后续DNA扩散、渗透至溶液中, 最终提高回收效率。
- 试剂盒中的研磨杵需要重复使用。首次使用后, 推荐清洗后使用RNase and DNase Away处理以确保去除核酸酶, 然后再用蒸馏水冲洗后备用。如果希望一次性使用研磨杵, 可以向碧云天订购TissueMaster™一次性塑料研磨杵(E6606)。

- 本试剂盒所有操作均在室温进行，操作时无需冰浴。所有离心也均在室温进行。
- 废液收集管在一次回收中需多次使用，切勿中途丢弃。
- 扩散液、结合液和洗涤液中含有乙醇，使用后须旋紧瓶盖以防挥发，并须按照易燃试剂的相关规范进行存放和使用。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. DNA变性/非变性PAGE电泳与切胶。

- a. 根据所需分离纯化的DNA片段大小配制相应浓度PAGE胶，以达到最佳的有效分离效果，相关参数如下表所示。

PAGE (%)	Size (bp)	Xylene Cyanol FF	Bromophenol blue
3.5	100-2000	460	100
5.0	80-500	260	65
8.0	60-400	160	45
12.0	40-200	70	20
15.0	25-150	60	15
20.0	6-100	45	12

- b. 在DNA样品中按比例加入DNA上样缓冲液，混匀后上样。
注意：变性PAGE凝胶上样前请反复吹打上样孔，将沉淀的尿素吹出上样孔，以获得更好的电泳效果。
- c. 接通电源，电泳至所需位置。
- d. 取出PAGE胶，放置到含有NA-Red (D0128/D0130)等核酸染料的无DNA酶的水中，在侧摆摇床上缓慢摇动5-10分钟。
- e. 使用一次性手术刀片将含目的DNA片段的PAGE胶切下，请确保切下的PAGE胶尽可能小并免受其它DNA片段的污染。

2. 凝胶研磨。

用本试剂盒提供的研磨杵在离心管内把PAGE胶研磨至细粉末状。

3. DNA扩散。

- a. 加入**300μl溶液I**至PAGE胶粉末中，适当混匀。
- b. **55°C水浴60-90min**，以促进胶中DNA扩散到溶液中。
说明：对于较大片段的DNA来说，可适当延长扩散时间，甚至37°C过夜，以提高回收效率。孵育过程中可以适当混匀几次，促进DNA的扩散。如果能使用带有震荡或摇动功能的恒温孵育装置效果更佳。
- c. **13,000g离心5分钟**。
- d. 小心吸取上清到新的离心管中，尽量避免吸取到凝胶。
- e. 再次加入**300μl溶液I**至凝胶粉末中，**55°C水浴30-60min**，适当混匀。
说明：累计两次的扩散时间通常约2小时或以上就能获得较好的回收效果。扩散更长时间仅对长度明显偏长的DNA片段的回收效率提高有帮助。
- f. **13,000g离心5分钟**。将上清液再次转移至步骤3d相同的上清液收集管中。

4. 纯化柱吸附。

- a. 向上清液中加入**700μl溶液II**，振荡或吹打混匀，室温放置1分钟。
- b. 将混合液(包括沉淀物)分**两次转移至纯化柱内**，每次**13,000g离心30秒**后倒弃收集管内液体。
注意：加入结合液后溶液总体积会超过纯化柱的容量(约700μl)，因此须分成2次过柱，即将一半的混合物(约650-700μl)加入纯化柱内后12000g离心30秒，倒弃收集管内液体，再将剩余的混合物加入纯化柱内12000g离心30秒，并倒弃收集管内液体。

5. 洗涤。

- a. 加入**600μl溶液III**，**13,000g离心30秒**，倒弃收集管内液体。
- b. 重复步骤5a一次。

6. 洗脱。

- a. **13,000g离心2分钟**，充分去除残留液体。
- b. 将DNA纯化柱置于本试剂盒提供的洗脱管中，加入**30-50μl洗脱液**，室温放置**2-3分钟**。
- c. **最高速(约12,000-16,000g)离心30秒**，所得溶液即为经PAGE纯化的DNA。
注意：洗脱液需要加到纯化柱柱面中央，使其被完全吸收。如需获得更高浓度的样品，可把洗脱液的体积减小至20μl，但洗脱下来的总DNA量会相对减少。室温较低时，洗脱液在37°C预热片刻对得率有所帮助。此外，洗脱后的溶液再次回到原纯化柱再离心洗脱一次，可提高得率约10-30%；或者在第一次洗脱后使用新的洗脱液再洗脱一次，会获得约为第一次洗脱量10-35%的DNA。

相关产品：

产品编号	产品名称	包装
E6606-20pcs	TissueMaster™一次性塑料研磨杵	20支/袋
E6606-100pcs	TissueMaster™一次性塑料研磨杵	100支/袋
D0043S	BeyoMag™磁珠法DNA凝胶回收试剂盒	50次

D0043M	BeyoMag™磁珠法DNA凝胶回收试剂盒	200次
D0056	DNA凝胶回收试剂盒	50次
D0058S	柱式PAGE胶DNA回收试剂盒	50次
D0059S	PAGE胶DNA回收试剂盒	50次
ST003-100ml	30% Acr-Bis (29:1)	100ml
ST003-500ml	30% Acr-Bis (29:1)	500ml
ST005	Ammonium persulfate substitute (APS substitute)	10g
ST728	TEMED	10ml
D0128	NA-Red (EB升级换代产品, 2000X)	1ml
D0130	NA-Red (EB升级换代产品, 2000X)	5ml
D0072	BeyoRed DNA上样缓冲液(6X)	2ml
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
R0123	RNase and DNase Away	250ml

Version 2022.08.23