

归
去
来
系
列

CAT#:60202-50
常温运输及保存

TIANDZ

柱式 DNA_{BACK}

Column DNA_{BACK}

使用手册 V5.1

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>本试剂盒用于从琼脂糖凝胶中或DNA反应体系中(如PCR反应)回收DNA片段。试剂盒采用可以高效、专一结合DNA的硅胶膜和独特的溶胶体系,可以从琼脂糖凝胶中或DNA反应体系中高效快速回收DNA片段,回收效率可达50-90% (跟片段大小相关)。本产品的特点如下:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 高效,回收效率最高可达90% (跟片段大小和胶浓度等因素有关),可以跟国外著名厂家的产品媲美。 2. 快速,整个过程只需要十余分钟。洗脱液不需要额外加乙醇。 3. 两用,既可用于胶回收,也可以用于PCR或其他酶反应回收。 4. 范围广,回收DNA的长度范围为50 bp-40 Kb (但效率各不相同)。 5. 能回收单链、双链及环状DNA,最大吸附量为10ug。 6. 回收的DNA可直接用于酶切、连接、PCR、测序等多种分子生物学实验。 7. 本试剂盒足够纯化50片含DNA的琼脂糖凝胶条 (每片胶条重量不超过250mg),可以纯化50次酶反应 (包括PCR反应,每次体积不超过250uL)。 																								
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="639 1003 1299 1451"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>大纸盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>通用溶胶液</td> <td>60409</td> <td>25 mL</td> </tr> <tr> <td>吸附柱活化液</td> <td>170602</td> <td>25 mL</td> </tr> <tr> <td>通用洗柱液</td> <td>60408</td> <td>50 mL</td> </tr> <tr> <td>离心吸附柱(窄口)</td> <td>60911</td> <td>50 套</td> </tr> <tr> <td>DNA 洗脱液 3.0</td> <td>170603</td> <td>10 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>60202sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>				成份	编号	大纸盒包装	通用溶胶液	60409	25 mL	吸附柱活化液	170602	25 mL	通用洗柱液	60408	50 mL	离心吸附柱(窄口)	60911	50 套	DNA 洗脱液 3.0	170603	10 mL	使用手册	60202sc	1 份
成份	编号	大纸盒包装																							
通用溶胶液	60409	25 mL																							
吸附柱活化液	170602	25 mL																							
通用洗柱液	60408	50 mL																							
离心吸附柱(窄口)	60911	50 套																							
DNA 洗脱液 3.0	170603	10 mL																							
使用手册	60202sc	1 份																							
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输及保存,有效期为一年。由于通用溶胶液 2.0 是高盐溶液,因此在低温时容易产生沉淀。如果产生沉淀,需要 60℃加热溶解后才可以使使用。</p>																								
<p>自备试剂</p>	<p>异丙醇</p>																								
<p>使用方法</p>	<p>一: 对胶回收:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 用干净的刀片切取含 DNA 片段的琼脂糖凝胶 (100 mg 左右,尽可能多地 把多余的胶切除,否则会影响回收效率),放入一干净的 1.5 mL 塑料离心 管(自备)中称重,按重量比为 1: 2 的比例加入通用溶胶液 2.0 (0.1 g 的 琼脂糖凝胶需要加入 0.2mL 的通用溶胶液 2.0)。如果琼脂糖凝胶的浓度大 于 2%,则需要按 1: 3 的比例加入通用溶胶液 2.0 溶解胶块。 2. 50℃保温 10 分钟使胶完全溶化,每隔 2-3 分钟振荡数次以促进琼脂糖凝 																								

胶的溶化。如果片段长度在 300bp 以下，建议不要 50℃保温，而是延长溶胶时间，以免 DNA 变性，影响回收率。

3. 在等待期间，活化离心吸附柱。在离心吸附柱中加入 0.5mL 吸附柱活化液，套上收集管后室温放置 2 分钟，然后 12,000 rpm 离心 2 分钟，倒弃穿透液，再将吸附柱套上收集管后待用。活化后的离心吸附柱必须在当天使用。
4. 在上柱前，在溶化的胶中加入相当于胶块体积 1/2 的异丙醇（对 100mg 胶块，加 50uL），快速振荡 10 秒混匀。
5. 将溶液转移到离心吸附柱中，套上收集管，静置 3 分钟。注意：静置有助于 DNA 与离心吸附柱的硅胶膜结合。本产品提供的离心吸附柱的最大上样体积为 0.8mL，若溶胶液的总体积大于 0.8mL，一次加不完，可以分多次将溶液加入到吸附柱中。
6. 12000-15000 g 离心 1 分钟，倒掉收集管中的穿透液。
7. 加入 0.7mL 通用洗柱液于离心柱中，12000-15000 g 离心 1 分钟，倒弃收集管中的废液。如果回收的 DNA 用于盐敏感实验（如平末端连接或直接测序），建议加入通用洗柱液后静置 2-5 分钟再离心。
8. 12000-15000 g 离心半分钟以去除离心柱中的残留液体。
9. 将离心柱吸附置于一新的干净的塑料离心管（自备）中，悬空加入 50 uL DNA 洗脱液于离心吸附柱硅胶膜的中央。注意：如果回收的 DNA 用于测序，则可用重蒸水（自备）洗脱 DNA。DNA 洗脱液可以也用 TE 替代，但用水或 TE 替代 DNA 洗脱液 3.0 时，回收率可能稍有降低。
10. 静置 3 分钟后 12000-15000 g 离心 1 分钟。
11. 离心管底部所得溶液即为纯化的 DNA 溶液，可立即用于后续实验或者放 -20℃长期保存。如果将所得 DNA 溶液再次加回到离心吸附柱中，重复洗脱过程，将得到更多的 DNA。
12. 用电泳方法或测 OD 方法确定回收所得 DNA 的浓度，1 OD₂₆₀ 对应的浓度是 50ug/mL（对双链 DNA）或 40ug/mL（对单链 DNA），纯净 DNA 的 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应该在 1.8 左右。注意：OD 读数跟 pH 相关，如果用自备的重蒸水洗脱，OD 值会低于在 DNA 洗脱液 3.0 中测定的数字。

二：PCR 或其他酶反应回收

13. 直接在 PCR 或其他酶反应管中加 2 倍体积的通用溶胶液，振荡 10 秒混匀。如果 PCR 反应中使用了石蜡，需要预先去除。

	<p>14. 活化离心吸附柱。在离心吸附柱中加入 0.5mL 吸附柱活化液，套上收集管后室温放置 2 分钟，然后 12,000 rpm 离心 2 分钟，倒弃穿透液，再将吸附柱套上收集管后待用。活化后的离心吸附柱必须在当天使用。</p> <p>15. 在上柱前，在反应液和溶胶液的混合液中加入相当于反应体积 1/2 的异丙醇（对 100uL 的反应液，加 50uL），快速振荡 10 秒混匀。</p> <p>16. 直接进入上面胶回收操作的第 5 步并进行后面的操作。</p>
<p>注意事项</p>	<p>1. 电泳回收 DNA 时，电泳缓冲液可以用 TAE、TBE 或者本公司的超快电泳液。回收效果为 SuperBuffer-2 最好，TAE 次之，TBE 最差。</p> <p>2. 通用洗柱液含有容易挥发物质，使用后一定要拧紧瓶盖，密闭保存。</p> <p>3. 琼脂糖凝胶体积的大小与回收率成反比关系，即体积越大，越不利于回收，一次胶回收以使用 100 mg 琼脂糖凝胶为宜。</p> <p>4. 如果在 5-10 分钟内凝胶溶化不完全，可以适当的延长水浴时间以使胶充分溶化，否则 DNA 包裹在琼脂糖凝胶中，影响 DNA 的回收效率。</p> <p>5. 胶溶化后的液体转移到离心柱后，可以延长静置时间使 DNA 与膜充分结合，提高回收效率。</p> <p>6. 洗脱 DNA 前的空甩很重要，其目的是去除膜上残留酒精，否则残留酒精会影响后续 DNA 反应。</p> <p>7. 增大 DNA 洗脱液使用量有利于回收，但要注意实际上样量与最终回收体积的关系，以便于计算回收率。DNA 洗脱液可以用 TE 或水替代，但回收率稍有降低。</p>
<p>疑难解答</p>	<p>Q: 为何用硅胶膜吸附柱法回收 TBE 胶中的 DNA 效果不好?</p> <p>A: 因为 TBE 中的硼酸会跟硅胶表面的 OH 基团反应，而这些 OH 又是吸附 DNA 所必需的。</p>
<p>关联产品</p>	<p>一管式胶回收试剂(CAT#:60706)、天恩泽超级电泳液(CAT#:151103)、绿如蓝低毒核酸染料(CAT#:70303)</p>