

版本号:240410

AidQuick Gel Extraction Kit

琼脂糖凝胶纯化回收试剂盒

目录号: DR01

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次 (DR0101)	100 次 (DR0102)	200 次 (DR0103)
平衡液	室温	5 ml	10 ml	20 ml
溶胶液 DD	室温	40 ml	75 ml	150 ml
漂洗液 WB	室温	13 ml	25 ml	50 ml
		第一次使用前按瓶子标签说明加指定量乙醇		
洗脱缓冲液 EB	室温	10 ml	15 ml	15 ml
吸附柱 EC	室温	50 个	100 个	200 个
收集管 (2 ml)	室温	50 个	100 个	200 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 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, 此时不应该直接使用, 可在 37°C 水浴加热几分钟, 即可恢复澄清。使用前应该恢复到室温。
2. 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进行。
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盖紧盖子。

❖ 产品介绍：

在高离序盐存在的情况下，琼脂糖凝胶溶解后 DNA 片段选择性的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：

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。
2. 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。
3. 溶胶液加酚红调制成为了黄颜色，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。
4. **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，不需要加醋酸调节 PH。**
5. 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

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到12,000 rpm的传统台式离心机。
2. 溶胶液和平衡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。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. 回收纯化的DNA片段一般在70 bp到40 kb之间，过长、过短片段的回收效率迅速降低。本试剂盒即使回收70 bp小片段也有突出领先的回收效率。
4. 回收DNA的量和起始DNA的量、洗脱体积、DNA片断大小有关。一般1-15 μg，100 bp-5 kb的DNA片段，回收率可高达85%。
5. 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。
6. **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℃。DNA片段如果需要长期保存，可以用TE缓冲液洗脱（10 mM Tris-HCl, 1 mM 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。

❖ 操作步骤

提示：第一次使用前请先在漂洗液 WB 瓶中按照标签指示加入指定量无水乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！

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，得到凝胶体积越小越好。
2. 将切下的含有 DNA 条带凝胶切成小块放入 1.5ml 离心管，称重。
 - ▲ 先称一个空 1.5 ml 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 100 mg，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℃ 水浴放置 10 min（或直至胶完全溶解）。每 2-3 min 涡旋震荡一次帮助加速溶解。
5. **可选，一般不需要：**每 100 mg 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。
6. **柱平衡：**向吸附柱 EC 中加入 100 μ l 平衡液，12,000 rpm 离心 1 min，弃滤液，备用。
 - ▲ 平衡液可以增强硅胶膜的吸附核酸能力，请使用当天处理的吸附柱。
7. 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 min，12,000 rpm 离心 1 min，弃滤液。
 - ▲ 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。

8. 加入 600 μl 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃滤液。再加入 600 μl 漂洗液 WB 重复漂洗一次, 弃滤液。
9. 将吸附柱放回空收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 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, 放入一个干净的离心管中, 在吸附膜的中间部位加 50 μl 洗脱缓冲液 EB(洗脱缓冲液事先在 80°C-90°C 水浴中预热可提高产量), 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃吸附柱。
 - ▲ 推荐: 为了增加 DNA 的回收效率, 可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 室温放置 1 min, 12,000 rpm 离心 1 min。洗脱两遍可提高浓度约 10%。
 - ▲ 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, 但是需注意体积过小降低 DNA 洗脱效率, 减少产量(最小不应少于 25 μl)。