PAGE 胶 DNA 回收试剂盒（乙醇沉淀法）

HX3049

产品简介

PAGE 胶 DNA 回收试剂盒（乙醇沉淀法）是一种基于乙醇沉淀法从聚丙烯酰胺凝胶（PAGE 胶）中简单便捷、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 1 kb 的 DNA 片段的分析和分离纯化，又称 PAGE 纯化。PAGE 胶 DNA 电泳的最高分辨率可达 1 bp，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，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 10~500 bp 的双链 DNA（dsDNA）或 10-500 nt 单链 DNA（ssDNA）从变性或非变性 PAGE 胶中的回收和纯化。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、经核酸沉淀、洗涤、晾干、溶解沉淀等一系列步骤，最终得到高纯度的 DNA 片段回收产物。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 20-100 bp 时，回收效率通常可以达到 50%以上。回收得到的 DNA 可直接用于酶切、连接、测序、PCR、杂交等后续实验。

产品应用

基于乙醇沉淀法从聚丙烯酰胺凝胶（PAGE 胶）中简单便捷、稳定、高效、高质量地回收 DNA 片段，回收得到的 DNA 可直接用于酶切、连接、测序、PCR、杂交等后续实验。

储存条件

室温保存，一年有效。

产品信息

组分编号	组分名称	规格 50 T
HX3049-1	Buffer P1（扩散液）	32 ml
HX3049-2	Buffer P2（沉淀缓冲液）	5 ml
HX3049-3	Buffer WB（洗涤液）	50 ml
HX3049-4	Buffer EB（溶解液）	5 ml
HX3049-5	塑料研磨杵	10 个

E-mail：service@ribonext.com
TEL：19520861352
RiboNext.com
RiboNext Biotechnology Co., LTD. (Ningbo, China)

注意事项

1. 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。
2. 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。
3. Buffer WB 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。
4. 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
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：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 等核酸染料的无 DNA 酶的水中，在侧摆摇床上缓慢摇动 5-10 min。

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：

E-mail：service@ribonext.com
TEL：19520861352
RiboNext.com
RiboNext Biotechnology Co., LTD. (Ningbo, China)

a. 加入 300 µl Buffer P1 至 PAGE 胶粉末中，适当混匀。

b. 55°C 水浴 60-90 min，以促进胶中 DNA 扩散到溶液中。

注：对于较大片段的目的 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. 13,000 g 离心 5 min。

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 300 µl Buffer P1 至凝胶粉末中，55°C 水浴 30-60 min，适当混匀。

注：累计两次的扩散时间通常约 2 h 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. 13,000 g 离心 5 min。将上清液再次转移至步骤 3d 相同的上清液收集管中。

4. 核酸沉淀：

a. 向上清液中加入 1/10 体积的 Buffer P2，再加入 2.5 倍体积无水乙醇，混匀。

注：如果待回收的 DNA 量较少时，为提高回收效率，推荐使用 Glycogen（核酸沉淀用），每次加入 1-3 µl，可以大大提高 DNA 沉淀效率。

b. -20°C 或-80°C 孵育 30 min。

注：低温孵育有助于小片段核酸的充分沉淀，温度越低，孵育时间越长，沉淀效率越高。

c. 4°C，13,000 g 离心 10 min。

5. 洗涤：

a. 小心去除上清，加入 500 µl Buffer WB，轻轻混匀。

注：去除上清时需要尽量小心，以避免沉淀的丢失。

b. 4°C，13,000 g 离心 5-10 min。

c. 如有必要，重复步骤 5a 和 5b 一次。如果不希望洗涤 2 次，DNA 乙醇沉淀后，一定要充分吸除上清，并且第一次洗涤后也需要充分吸除上清。

6. 晾干与溶解：

小心吸净残留液体，室温晾干，加入 30-50 µl Buffer EB 溶解沉淀，即为纯化回收的 DNA 片段溶液。

注：吸净残留液体的情况下，通常 1 min 内就会晾干。适当干燥即可，过度干燥会导致后续溶解速度非常缓慢。

E-mail：service@ribonext.com
TEL：19520861352
RiboNext.com
RiboNext Biotechnology Co., LTD. (Ningbo, China)