
版本号:250505**AidQuick Gel Extraction Midi Kit****大量琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒****目录号: DR10****❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:**

试剂盒组成	保存	50 次 (DR1001)
平衡液	室温	5 ml
溶胶液 DD	室温	75 ml
漂洗液 RW	室温	13 ml 第一次使用前按瓶子标签指示加入无水乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	10 ml
吸附柱 EC (加厚)	室温	50 个
收集管 (2 ml)	室温	50 个

按照指定温度储存, 12 个月内不影响使用效果。

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。

采用加厚吸附膜, 吸附 DNA 能力比常规琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒高 2.5 倍左右, 最大能吸附 20-30 μg DNA, 适合中/大量琼脂糖凝胶回收。

❖ 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 5-30 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

- ⇒ 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 4 Kb 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，13,000 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, 13, 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 μ l 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 13, 000 rpm 离心 30 sec, 弃滤液。再加入 600 μ l 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, 13, 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 50-100 μ l 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, 13, 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, 13, 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 50 μ l)。