

## PAGE胶DNA回收试剂盒

产品编号	产品名称	包装
D0059S	PAGE胶DNA回收试剂盒	50次

### 产品简介:

- 碧云天生产的PAGE胶DNA回收试剂盒(DNA PAGE Gel Extraction Kit, or DNA Polyacrylamide Gel Extraction Kit), 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10~500bp的双链DNA (dsDNA)或10~500nt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20-100bp时, 回收效率通常可以达到50%以上。
- 本试剂盒回收得到的DNA可直接用于酶切、连接、测序、PCR、杂交等后续实验。
- 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、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[1]。

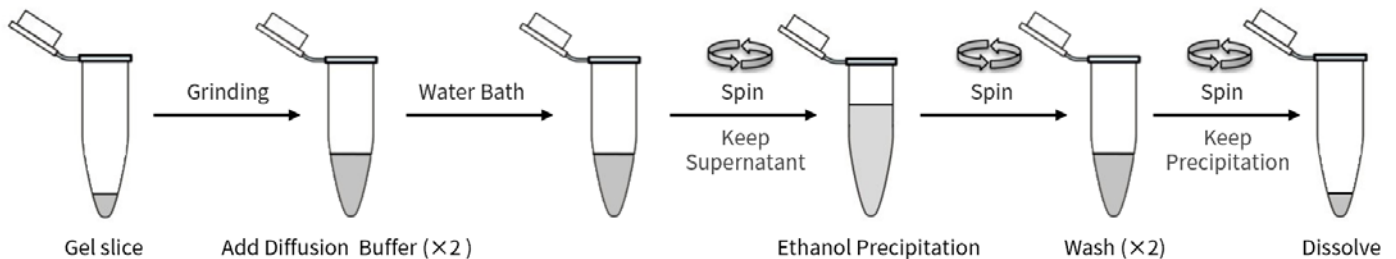


图1. PAGE胶DNA回收试剂盒(D0059S)操作流程示意图。

- 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
D0059S-1	溶液I (扩散液)	32ml
D0059S-2	溶液II (沉淀缓冲液)	5ml
D0059S-3	溶液III (洗涤液)	50ml
D0059S-4	溶液IV (溶解液)	5ml
D0059S-5	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)。
- 溶液III (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. 核酸沉淀。

a. 向上清液中加入**1/10体积的溶液II**，再加入**2.5倍体积无水乙醇**，混匀。

**说明：**如果待回收的DNA量较少时，为提高回收效率，推荐选购碧云天的Glycogen (核酸沉淀用) (D0812)，每次加入1-3μl，可以大大提高DNA沉淀效率。

b. **-20°C或-80°C孵育30分钟**。

**说明：**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，13,000g离心10分钟**。

## 5. 洗涤。

a. 小心去除上清，加入**500μl溶液III**，轻轻混匀。

**说明：**去除上清时需要尽量小心，以避免沉淀的丢失。

b. **4°C，13,000g离心5-10分钟**。

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。

a. 小心吸净残留液体，室温晾干。

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

b. 加入**30-50μl溶液IV**溶解沉淀，即为纯化回收的DNA片段溶液。

## 参考文献：

1. Lopez-Gomollon S and Nicolas FE. Methods Enzymol. 2013. 529:65-83.

## 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
ST004M	Agarose (Low EEO)	50g
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
D0812	Glycogen (核酸沉淀用)	500 $\mu$ l
R0021	DEPC水(DNase、RNase free)	100ml
R0022	DEPC水(DNase、RNase free)	500ml
R0123	RNase and DNase Away	250ml

Version 2022.08.23