

Biospin Polyacrylamide Gel DNA Extraction Kit

Biospin 聚丙烯酰胺凝胶 DNA 回收试剂盒

TECHNICAL SUPPORT:

For technical support, please dial phone number : 0086-571-87774567-5278 or 5211,
or fax to 0086-571-87774303

Email to reagent@bioer.com.cn.

Website: www.bioer.com.cn

试剂盒组成

货号	BSC15S1	BSC15M1
试剂盒组成	50 人份	100 人份
PE Buffer	10 ml	20 ml
PEB Buffer	20 ml	40 ml
PWash Buffer	18.9ml	37.8ml
Elution Buffer	10ml	20ml
Spin Column	50	100
说明书	1 份	1copy

附碎胶工具一对

储存与运输

- ◆ 本试剂盒存于室温（15~25℃）。所有试剂如果适当保存，可以稳定保存 18 个月。
- ◆ 本试剂盒可在常温下运输。

介绍

本试剂盒采用一套独特的 DNA 抽提系统，能简单、快速和有效地从聚丙烯酰胺凝胶中回收纯化 DNA 片段。本试剂盒简单有效的纯化是基于 Biospin 膜结合核酸的显著选择性。本方法不需要昂贵的设备，完全避免采用毒性或是具有危险性的试剂如苯酚和氯仿，只需少数几个步骤即可完成提取过程。纯化的 DNA 可以广泛应用于各种分子生物学的下游，如分子克隆、测序、PCR、限制性酶切等。

基本技术参数

提取方法	离心柱容积	提取 DNA 片段范围	适用电泳缓冲液	温裕温度	洗脱液回收率
离心柱	750 μ l	100bp~10kb	TAE/TBE 缓冲液	65℃	\geq 99%

需要的配套设备和材料

- * 无菌 1.5ml/2ml 离心管
- * 离心机(最大转速 $>$ 14,000g)
- * 恒温水浴或金属浴
- * 漩涡振荡器
- * 各种规格移液器和无菌移液器吸头
- * 无水乙醇

注意事项：

1. 本产品不适于含尿素的凝胶。
2. 使用前按瓶身标签标明体积加入无水乙醇，并将其混匀。
3. 如果切下的凝胶块较大，可适当增加 PE Buffer 的用量，保证胶块充分浸没，但不宜超过 200 μ l。
4. 本试剂盒最适洗脱液体积为 50 μ l，洗脱液用量可根据客户实验具体情况灵活调整。
5. 若凝胶用酸性试剂进行固定，如冰醋酸等，请将固定后的凝胶用清水或 10mM Tris-HCl (pH7.0) 洗涤 2~3 遍。建议染色方法见附表。

操作步骤

1. 室温下平衡样品和所有试剂。

2. 将切下的含有 DNA 片段凝胶块放入一只新的 1.5ml 离心管, 然后加入 100~150 μ l PE Buffer (需将胶块完全浸没), 用碎胶器将胶块碾碎, 并高速振荡 30 秒。
3. 于恒温水浴或金属浴中 65°C 孵育 30 分钟以上, (一般温育时间为 30 分钟~6 小时, 也可过夜温育)。
4. 简短离心后将上清液转移到另一个新的 1.5ml 离心管。
5. 在上述离心管中加入 PE Buffer 体积 2 倍的 PEB Buffer。并充分混匀。
6. 将混匀的液体转移至 Spin Column 上。6,000 \times g 离心 1 分钟, 并弃去套管内液体。
7. 向 Spin column 内加 600 μ l P Wash Buffer, 于 10,000g 离心 30~60 秒, 并弃去接液管内液体。
8. 重复第 7 步一次。
9. 再次于 10,000g 离心 1 分钟, 然后将 Spin column 转移到无菌的 1.5ml 离心管中。如不进行该步离心, 则无法保证离心柱内残液被彻底清除。
10. 向 Spin column 内加 50 μ l Elution Buffer 或去离子水或 TE 溶液, 并于室温静置 1 分钟。
可根据实验的实际需要决定 Elution Buffer 用量。
11. 于 10,000g 离心 1 分钟, 1.5ml 离心管内溶液中含有目的 DNA 片段。
12. 回收的 DNA 可直接用于各类下游分子生物学实验, 如果不立即使用, 请保存于 -20°C。

常见问题及对策

没有回收到 DNA 片段

如在洗脱后, 发现洗脱液中没有 DNA 片段, 请检查是否按瓶身标签, 在洗涤液中加入无水乙醇。

提取率低

- 1) PE Buffer 为碱性缓冲液, 如果使用冰醋酸等酸性试剂固定的凝胶, 会造成提取时 PE Buffer 其 pH 值降低将影响提取率。请在固定凝胶后用清水或 10mM Tris-HCl (pH7.0) 溶液洗涤凝胶 2~3 遍。
- 2) 如果凝胶块碾磨不够充分, 将造成提取率下降。请将凝胶块碾磨充分。
- 3) 在洗脱前, 将洗脱液于 30~60°C 温浴, 可提高提取效率。

吸光度测量结果问题

吸光度测量的是未知样品与调零标准之间的相对吸光度, 所以请用与洗脱液体相同的液体, 对测量样品进行稀释和调零。

如何计算提取率

- 1) 由于回收前样品中, 往往含有非目的 DNA 片段、引物、dNTP 等, 所以不能用测回收前后吸光度的方法计算回收率。
- 2) 可将回收前后 DNA 片段一起电泳, 使用凝胶成像系统拍照后, 用配套的软件进行电泳条带灰度对比。
- 3) 注意, 电泳条件及拍摄条件将对灰度对比结果造成很大影响, 请仔细操作, 以减小误差。

附表: 染色方法 (供参考)

染色方法一:

1. 用固定液 (40%乙醇; 10%冰醋酸) 固定 30 分钟。
2. 用致敏液 (75ml 乙醇; 17g 乙酸钠; 0.5g 硫代硫酸钠; 加水至 250ml) 致敏 30 分钟。
3. 水洗 3 次, 每次 10 分钟。

4. 银染 20 分钟。(0.625g AgNO_3 加水至 250ml, 使用前加 100ul 的 37% 甲醛)。
5. 水洗 2 次, 每次 1 分钟。
6. 显色 (6.25g Na_2CO_3 加水至 250ml, 使用前加 50 μl 甲醛)
7. 终止 10 分钟 (3.65g $\text{EDTA}_2\text{Na}_2\text{H}_2\text{O}$ 加水至 250ml)

染色方法二:

1. 可在加样时将 DNA 样品与上样缓冲液以及 1 μl 的 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ EB 储存液混合后电泳。
2. 也可在电泳完成后, 将凝胶置于含有 0.5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ EB 的电泳缓冲液或水中浸泡 30~45 分钟, 一般不需要脱色。但若于室温用水或 1mM 的 MgSO_4 将已染色的凝胶浸泡 20 分钟, 可以降低由未结合的 EB 所引起的背景荧光。