

HiPure Poly Gel DNA Kit

PAGE胶DNA 回收试剂盒

产品组份

Cat.No.	D2113-01	D2113-02	D2113-03
包装次数	10 Preps	50 Preps	250 Preps
Buffer GDS	5 ml	20 ml	40 ml
Buffer PBD*	5 ml	10 ml	40 ml
Buffer DW2*	6 ml	20 ml	2 x 50 ml
Elution Buffer	1.8 ml	15 ml	30 ml
HiPure DNA Mini Column I	10	50	250
Poly-Gel Filter Column	10	50	250
2 ml Collection Tube	20	100	500

版本号: 202401

保存条件

本产品可以室温保存 18 个月。低温下, Buffer PBD 可能有沉淀出来, 使用时须加热至 55°C 使沉淀溶解。

产品简介

聚丙烯酰胺凝胶电泳常用于核酸的高分辨率的电泳分析。DNA或RNA经聚丙烯酰胺凝胶电泳后，常常需要从凝胶中切出所需要DNA或RNA片段，然后再进行回收。HiPure Poly Gel DNA Kit适合于从各种浓度的变性或非变性的聚丙烯酰胺凝胶中回收50-4000bp的DNA片段。DNA回收效率可高达60-80%，纯化的DNA可直接用于自动测序，连接，酶切，PCR，标记等。

原理

HiPure 硅胶柱是采用高结合力的玻璃纤维滤膜为基质。滤膜在高浓度离子化剂(如盐酸胍或异硫氰酸胍)条件下，可通过氢键和静电等物理因素吸附核酸，而蛋白质或其它杂质不被吸附而去除。吸附了核酸的滤膜经洗涤去除蛋白质和盐，最后可以用低盐缓冲液(如Buffer TE)或水，洗脱出滤膜上吸附的核酸。得到的核酸纯度高，可直接用于各种下游实验。

准备事项

- 小型高速离心机 (~12,000 × g)
- 水浴锅温度设至 50℃
- 小型高速离心机 (~12,000 × g)
- 灭菌的1.5ml或2.0ml 离心管
- 无水乙醇
- 干净的刀片
- Buffer PBD使用前加入2倍体积的无水乙醇进行稀释，于室温保存。
- Buffer DW2使用前加入4倍体积的无水乙醇进行稀释，于室温保存。

实验步骤 DNA回收

1. 配制合适浓度的聚丙烯酰胺凝胶，电泳分离出DNA片段，用干净的刀片切下含目的DNA片段的凝胶块，放置在载玻片上称重。
2. 用另一块载玻片将凝胶块压成小的碎片，把全部碎片转移至1.5ml离心管中。
聚丙烯酰胺凝胶熔点高，凝胶不能熔解。DNA主要通过扩散方式从凝胶中游离出来，尽量把PAGE胶研磨成小碎片，有利于提高DNA的回收效率。
3. 按100mg凝胶为100 μ l为转换关系，加入1.5倍体积的Buffer GDS至样品中，50 $^{\circ}$ C振荡温育30~60分钟让DNA充分扩散至溶液中。
例：100mg的凝胶块，需加入150 μ l Buffer GDS。
4. 取一个Poly-Gel Filter Column装在2ml收集管中。把第3步获得混合液以及全部凝胶碎片转移至柱子中，12,000 \times g离心1分钟。
转移混合液/凝胶块时，用剪刀或刀片切去移液枪头的一部分，防止枪头堵塞。
5. 丢去过滤柱，收集并测量滤液的体积。
6. 加入2倍体积的Buffer PBD(已用无水乙醇稀释)至滤液中，用移液器吸打混匀3-5次。
若滤液的体积为250 μ l，则需加入500 μ l Buffer PBD。Buffer PBD使用前须加入2倍体积的无水乙醇进行稀释。
7. 将HiPure DNA Mini Column I套在收集管中，把混合液转移至柱子中。12,000 \times g离心30~60秒。
DNA柱一次最多装700 μ l溶液，混合液超过700 μ l时，按第8步分次加入。
8. (可选：混合液>700 μ l) 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。把剩余的混合液转移至柱子中。12,000 \times g离心30~60秒。
9. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入500 μ l Buffer DW2 (已用无水乙醇稀释)至柱子中。12,000 \times g离心30~60秒。
Buffer DW2使用前，须加入4倍体积的无水乙醇进行稀释，按瓶子上的标签所示。
10. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入500 μ l Buffer DW2 (已用无水乙醇稀释)至柱子中。12,000 \times g离心30~60秒。
11. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。12,000 \times g离心3分钟。

12. 把柱子套在1.5ml离心管中，加入15~30 μ l Elution Buffer至柱子膜中央。放置2分钟。

12,000 \times g离心1分钟。

若需要获得最高产量，建议重复第12步进行第二步洗脱。若回收大于5KB以上的片段时，最好把Elution Buffer预热至55 $^{\circ}$ C，并重复2-3次洗脱。重复洗脱时，可以把得到洗脱液再转移至柱子进行第二次或第三次洗脱，以获得高浓度的DNA。

Elution Buffer成分为10mM Tris,pH8.5可以用Buffer TE或灭菌水(pH>6.5)代替。

13. 丢去柱子，把DNA保存于-20 $^{\circ}$ C。

常见问题回答

该列表可能有利于解决提取过程所碰到的问题。此外，HiPure的技术人员也可以随时为您提供服务，若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽全力为您排忧解难。

现象	原因及解决方法
回收效率低	
凝胶没有压碎	聚丙烯酰胺凝胶在低温不会凝解。尽量压碎凝胶有利于提高回收效率。
洗脱液体积太小	加入洗脱液体积不能太少。
Buffer DW2没有加乙醇	Buffer DW2使用前必须用无水乙醇进行稀释。
下游应用不理想	
盐污染	加入Buffer DW2至柱子后，静置5分钟后再离心。
乙醇污染	Buffer DW2最后一步洗涤时，离心时间不能减少。取出柱子必须确保柱子的底部不会接触到滤液。若不小心接触到滤液，倒弃收集管的滤液，把柱子放回收集管中，空柱离心2分钟以彻底干燥柱子。
紫外曝光时间太长	DNA在紫外灯下曝光时间不要超过20秒。

若以上的解答还是无法解决您的问题，请您联系我们。