



DNA 片段玻璃奶纯化回收试剂盒

(Glass-milk Gel Mini Purification Kit)

目录号: ZP206 版本号: 2014-6-30

试剂盒内容:

试剂盒组成	ZP206-01 (50 次)	ZP206-02 (100 次)	ZP206-03 (300 次)
玻璃奶	0.5ml	1ml	3ml
溶胶液	25ml	40ml	120ml
漂洗液 W2	15ml	15ml	3×15ml
洗脱缓冲液 TE	15ml	15ml	15ml
说明书	1 份	1 份	1 份

选配试剂:

3M 乙酸钠 (pH 5.2) (目录号: ZS108)

储存条件:

本试剂盒在室温 (15–25°C) 干燥条件下, 可保存 12 个月; 更长时间的保存可置于 2–8°C。(注意: 当低温贮存时, 使用前应先将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间, 必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟, 以平衡溶液温度)。玻璃奶应储存在 -20°C, 防止沉淀, 可反复冻融。

产品简介:

利用特殊玻璃微珠吸附DNA的特性, 可快速、高效地纯化、回收DNA。与传统的低熔点琼脂糖和PEG回收DNA方法相比, 此试剂盒有以下特点:

- **快速:** 整个操作过程可在30-45分钟内完成。
- **高效:** 常规操作, 回收率最高可达80%左右。
- **高纯:** 不含盐、蛋白质、RNA等杂质, 纯度与CsCl密度梯度离心相仿。
- **广泛:** 可以回收100bp-20,000bp的DNA片段。
100bp DNA片段的回收率>60%
200bp-20Kb DNA片段的回收率可达70%-80%
20Kb以上 DNA片段回收率可达50%
- **多样:** 可以回收单链、双链DNA片段以及环状质粒DNA。
- **简便:** 仅在单个Eppendorf管中操作, 易于掌握。
- **安全:** 不接触酚、氯仿等有害物质。

注意事项: 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

- 1 溶胶液中含有 pH 指示剂, 为黄色时, 指示 pH≤7.5。若实验过程中溶液颜色发生变化, 请使用 5-10μl 3M 乙酸钠 (pH 5.2) 将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。(溶胶液中含有 pH 指示剂, 当 pH≤7.5 时溶液的颜色为黄色, 此时 DNA 才能够完美有效的与膜结合, 当 pH 值偏高时溶液的颜色变为桔红色和紫色, 需要进行调整。)
- 2 使用之前请按照瓶体标签提示在漂洗液 W2 中加入无水乙醇。
3. 玻璃奶在使用前务必混匀; 特别是有沉淀产生时, 应振荡或吹打至沉淀消失。

操作步骤：

● 一、从普通琼脂糖凝胶中回收DNA片段

1. 待回收的DNA片段经电泳分离后，从琼脂糖凝胶上切下所需DNA片段，放在1.5ml Eppendorf管中。
2. 加入2倍(请准确估量凝胶的体积!)体积的溶胶液(如果凝胶重为0.1g，其体积可视为100 μ l,则加入200 μ l溶胶液)，55°C保温6-10分钟，其间轻摇Eppendorf管几次使胶完全溶化。
注意：标准是1%的胶，如果是2%的胶则加入4倍体积溶胶液。
3. 加入10 μ l玻璃奶(玻璃奶使用前请充分混匀!)，涡旋振荡1-2秒，冰浴下放置10分钟；其间每隔2-3分钟混匀一次！12,000rpm离心30秒，吸弃上清。
注意：充分振荡混匀，有助于玻璃奶分散开，增大吸附面积，提高得率，但对大于15k以上的片段有少量的剪切。建议先按我们提供的振荡1-2s操作，如果剪切程度过大，产物不适合您的后续实验，再做适当调整。
4. 加250 μ l漂洗液W2（请检查是否按瓶体标签提示加入无水乙醇），用加样器吹打漂洗液，轻柔地将玻璃奶悬浮混匀，12,000rpm离心30秒，吸弃上清。
5. 重复步骤4(尽量吸尽漂洗液!)。吸取完漂洗液后再离心10秒钟，用10ul Tip头将最后一点儿漂洗液吸干净。然后，放置于37°C温箱干燥15-20分钟(如果未干，可适当延长干燥时间! 特别提示:客户也可选择50°C的烘箱来干燥玻璃奶,5-10分钟即可,这样可以节省实验的时间,整个实验约半小时即能完成)。

6. 加适量洗脱缓冲液TE或无菌蒸馏水或TE(常规加入20 μ l)，混匀，60°C水浴5分钟，12,000rpm离心1分钟，回收上清备用。重复步骤6，能提高回收率。

● 二.从溶液中纯化回收DNA片段

1. 在DNA溶液中加入2倍体积的溶胶液和10 μ l玻璃奶，振荡混匀，室温下放置5分钟。
2. 其余步骤同上。

附录：【优化的 PCR 产物克隆连接反应】

连接反应实验步骤：

- 1). 50 μ l PCR反应产物中加入1 μ l Klenow 酶(约2-5个单位)，于37°C放置半个小时。
- 2). 采用【DNA快速纯化回收试剂盒(玻璃奶法)】回收所需的DNA片段。
- 3). 在10 μ l反应体系中分别加入：载体pUC18/SmaI 1 μ l (0.1 μ g)、所需插入的外源DNA片段6 μ l(与载体的摩尔数比约为3比1,或10比1,甚至更高)、50% PEG8000 1 μ l、10X连接缓冲液 1 μ l、T4 DNA连接酶1 μ l(约1-5个单位)。
- 4). 于16°C放置过夜(>12小时)，随后即可做转化反应。