D2510 Ultra-Sep® Gel Extraction Kit 简易中文步骤

√实验前请按说明书稀释和保存以下溶液

➢ 使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
D2510-00	20mL
D2510-01	80mL（每瓶）
D2510-02	160mL（每瓶）

提取步骤：

1. 进行琼脂糖凝胶/溴化乙锭电泳以分离 DNA 片段，任何类型或等级的琼脂糖都可以使用。我们强烈的建议您使用新鲜的 TAE Buffer 作为电泳缓冲液。不要重复使用电泳缓冲液，因为会因其 pH 的升高而降低产量。也可以使用 TBE Buffer，但必须新鲜制备。
2. 当所需 DNA 片段完全分离时，转移凝胶至 UV 灯箱小心将目的片段切下。注：切胶时尽量把多余的凝胶切去，DNA 曝露在紫外灯下不能超过 30s。使用紫外灯时请佩戴护目镜。
3. 将带有目的片段的凝胶块转移至 1.5mL 离心管(已称重)中，称重得出凝胶块的重量。近似地确定其体积。假设其密度为 1g/mL（几乎所有 DNA 凝胶的密度都可以近似为 1g/mL），于是凝胶块的体积便可通过如下方法得到：凝胶薄片的重量为 0.2g，则其体积为 0.2 mL。加入等体积的 Ultra-Sep® Binding Buffer，将 Ultra-Sep® beads 重悬后转移 10μl 至离心管中，于 50-55℃孵育 10min 或至凝胶完全融化，孵育期间每 2min 振荡或涡旋混合物。对于小于 400bp 的 DNA 片段或＞2%的琼脂糖凝胶，使用凝胶薄片体积或重量 3 倍的 Ultra-Sep® Binding Buffer。

   重要：在凝胶完全溶解之后，注意凝胶-Ultra-Sep®Binding Buffer 混和物的 pH 值。如果其 pH 值大于 8 的话，DNA 的产量将大大减少。观察混和物的颜色，如果是橙色或红色，则要加入 5μl 浓度为 5M，pH 为 5.2 的醋酸钠，以调低其 pH 值。经过这一调节，该混合物的颜色将恢复为正常的浅黄色。
4. 在室温下，10,000xg 离心 1min 沉淀 Ultra-Sep® beads，吸除上清；
5. 加入 300μl Ultra-Sep®Binding Buffer 洗涤 Ultra-Sep® beads，涡旋重悬，10,000xg 离心 1min，吸除上清；

   Note：Binding Buffer 可提供单独购买，详请参考目录或打电话获取详细信息。
6. 加入 750μl DNA Wash Buffer，涡旋重悬，10,000xg 离心 1min 沉淀玻璃珠，吸除上清；

   Note：DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。

中国区总代理:广州飞扬生物工程有限公司 | 技术支持 020-32051125 | QQ:800848200 | omegabiotek.com.cn

7. 将离心管盖敞开，风干 10-15min，该步骤对于获得良好的 DNA 产量至关重要。
8. 加入 15-50μl（取决于最终产物浓度）Elution Buffer（10mM Tris，pH8.5），涡旋重悬玻璃珠，10,000xg 离心 1min 沉淀玻璃珠；
9. 小心将含有 DNA 的上清液转移到干净的离心管中，该过程能洗脱 80-90%的 DNA。可选择进行第二次洗脱，可将残留的 DNA 洗下，但二次洗脱时另外加入的 Elution Buffer 会导致产品浓度降低，可按实际需求选择是否进行二次洗脱。
Note：Ultra-Sep® beads 洗脱 DNA 的效率取决于 pH，如果用水洗脱，需确保 pH 在 7.5-8.0 左右。
10. DNA 的产量和质量：确定 DNA 在 260nm 和 280nm 处的吸光度，DNA 浓度的计算如下：

DNA 浓度=A260×50×（稀释倍数）μg/mL

对于长度大于 500bp 的片段可进行常规纯化，产率 > 80%，对于条带大小在 50bp-500bp 的片段，产率在 55%-80%之间，A260/A280 的比率是核酸纯度的指标。大于 1.8 的值表示 > 90%的核酸。也可通过琼脂糖凝胶/溴化乙锭电泳来确定。

中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准

中国区总代理:广州飞扬生物工程有限公司 | 技术支持 020-32051125 | QQ:800848200 | omegabiotek.com.cn