

大片段 DNA 的回收不再是难题

与几十 kb 甚至上百 kb 的大片段打交道就是麻烦，一不留神它就断了。最早采用的经典方法电洗脱和低熔点琼脂糖能很好地回收大片段，但是操作起来相当繁琐，非理想之选。而当今常规的硅胶膜离心过柱法也不适合大片段 DNA 的回收。因为 DNA 分子越长，与硅胶纯化膜的结合力越强，洗脱困难，导致在离心过柱时就很容易断裂，因此仔细看说明书，你会发现采用硅胶膜离心过柱技术的 DNA 片段回收试剂盒一般只适用于 10kb 以下的片段(就算有说能做 20kb 的，往往也会发现结果不好，且回收率低)。对于超大片段的 DNA 回收，负责的厂家会建议采用 Glassmilk 玻璃奶，或者类似的硅胶微珠悬液。

玻璃奶法相对离心过柱法更为灵活，可以根据每次回收实验时预期回收量来调整纯化填料的量，使得实验不受限于柱子的载量，也不会造成浪费。胶回收的步骤都一样，凝胶溶解后，加入纯化填料吸附混合，快速离心沉淀去上清，洗涤之后干燥沉淀，最后用洗脱液将吸附的片段释放出来，离心，取上清，就是回收的产物。这种方法通用型强，适合各种不同大小的片段，特别是大片段的回收，而且可以适当自行调节洗脱体积而决定洗脱产物浓度，价格实惠，确实是生物通小编本人推荐的好东西，可就是操作就复杂一些：一个是沉淀干燥，干燥过度会导致洗脱困难回收率低下，可干燥不足又会残留乙醇而妨碍后继实验，连带检测 OD 值都受影响。这何谓合适，还真没准头——计算时间好像也不怎么完全可靠，室温湿度不同时间也就有差异，因此全凭一双肉眼经验判断。你说那么不靠谱的事儿，一个实验新手，得反复折腾多少回浪费多少材料和精力才能掌握那经验啊。。。因此这产物的纯度也自然不会太高。另一个问题是取上清，洗脱液重悬后离心沉淀，取上清虽微不足道可也是个技术活儿，Glassmilk 也好，硅胶微珠也好都轻细如尘，吸取稍多点稍微快点就不小心把它们吸进去了，又得重来，不然混入后继实验委实够你受的，取少了浪费多回收率低又难免心有不甘。这时你就会觉得离心柱是一种多么可爱省心的发明呀！

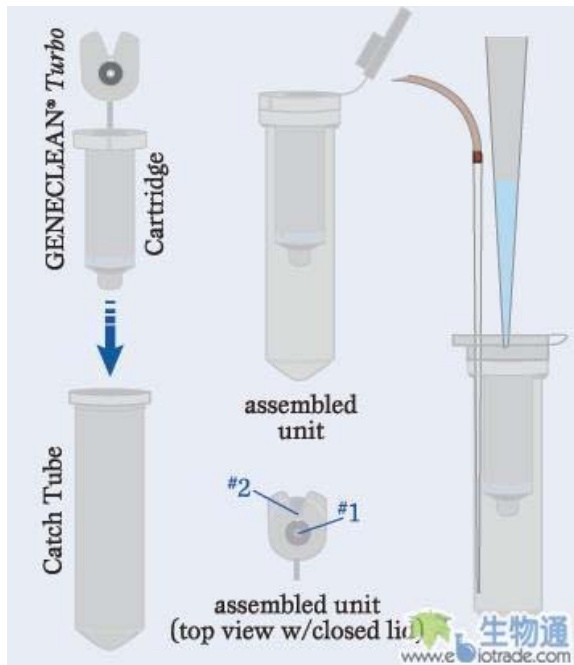
针对这个问题，美国 MP Bio 公司新推出了改进版的玻璃奶试剂盒——GENECLEAN® Turbo Kit，能从琼脂糖凝胶、PCR 反应和其它酶切反应中简单快速地回收 300 kb 以下的 DNA 片段。

也许你还不知道，GENECLEAN® 系列早在 1986 年就已问世，是最早利用玻璃奶特异结合 DNA 的商业化产品。GENECLEAN® Turbo Kit 则是 GENECLEAN® 产品家族的最新成员。它同样是基于玻璃奶结合 DNA 的高效性，但 Turbo 结合基质包被在一种特殊的复合膜中。

Glassmilk 或者硅胶微珠都具有松散的立体结构可以全方位包被 DNA 分子而避免大片段牵扯断裂，但是松散的结构使得在离心沉降过程中粒子沉降速度差异和相对位置不固定，对于会吸附到多个微粒的更大片段来说也会导致断裂，通常适合 10-50kb 的片段，而固定在复合膜中的 Glassmilk 可以减少这个问题，GENECLEAN® Turbo Kit 回收片段最大可达 300kb。

这种内含玻璃奶的膜，也就是 GENECLEAN® Turbo 的滤膜，位于 GENECLEAN® Turbo 吸附柱的底部。上样后，液体穿过滤膜，流到收集管或真空歧管中。吸附柱盖子的设计特别巧妙，请看下图。吸附柱与收集管组装之后，盖上盖子，从上面看上去，有两个孔。#1 孔是加样孔，液体经由这个孔

加到滤膜上。**#2** 孔是废液孔，使用接有真空装置的针头就能将废液轻松吸走。这样，手工操作就更简单了，在洗涤和洗脱的过程中，连开盖、关盖这样的活都省了。别小看开关盖，样品多的话，大拇指可特别遭罪。



整个操作过程也很简单：溶胶（PCR 产物无需溶胶，直接加入 5 倍体积的盐溶液）后，上样到吸附柱中，离心 5 秒；再加入洗涤液，离心 5 秒；之后是空转离心 4 分钟，干燥吸附柱；最后加上洗

脱液，室温孵育 5 分钟，离心 1 分钟，搞定。洗涤这一步能去除琼脂糖、限制性内切酶、反转录酶、Taq 酶、T4 连接酶、引物、接头、EB、盐以及残留的有机溶剂。

于是，大片段 DNA 的回收也能像小片段一样，在十几分钟的时间内轻松完成。100 bp 到 300 kb 的 DNA 片段都不在话下。当然，如果片段很大，还是要特别温柔的，毕竟它们很脆弱。回收后的 DNA 纯度很高，可用于测序、克隆、PCR、转化、转染、显微注射、芯片分析等应用。

对于芯片分析、测序和 PCR 等应用而言，高通量的样品处理形式可能更为理想。GENECLAN® Turbo 96 就是高通量的版本。它在 96 孔板中使用了膜包被的 GENECLAN® Turbo 基质，纯化后的物质洗脱在可密封的 96 孔收集板中。整个纯化过程在 45 分钟以内完成。

有了 GENECLAN® Turbo Kit，大片段 DNA 的回收不再是实验的瓶颈了。你也不用对着 100 多 kb 的片段，一筹莫展啦。如果你现在正面临这样的难题，那就赶快联系 MP Bio 公司[索取该试剂盒的技术资料](#)吧。