产品使用说明书

D-Tube™ 透析/电洗脱管：Mini/Midi/Maxi/Mega/D-Tube96™

*建议同时参考本说明书英文原文（说明书编号TB422）。

产品名称	包装	货号
D-Tube™ Dialyzer Mini, 截留分子量 6－8kDa	10个	71504-3
D-Tube Dialyzer Mini, 截留分子量 12－14kDa	10个	71505-3
D-Tube Dialyzer Midi, 截留分子量 3.5kDa	10个	71506-3
D-Tube Dialyzer Midi, 截留分子量6－8kDa	10个	71507-3
D-Tube Dialyzer Maxi, 截留分子量 3.5kDa	10个	71508-3
D-Tube Dialyzer Maxi, 截留分子量6－8kDa	10个	71509-3
D-Tube Dialyzer Maxi, 截留分子量12-14kDa	10个	71510-3
D-Tube96™ Dialyzer, 截留分子量6-8kDa	1	71712-3
D-Tube96 Dialyzer, 截留分子量12-14kDa	1	71713-3
D-Tube Electroelution Accessory Kit	1	71511-3

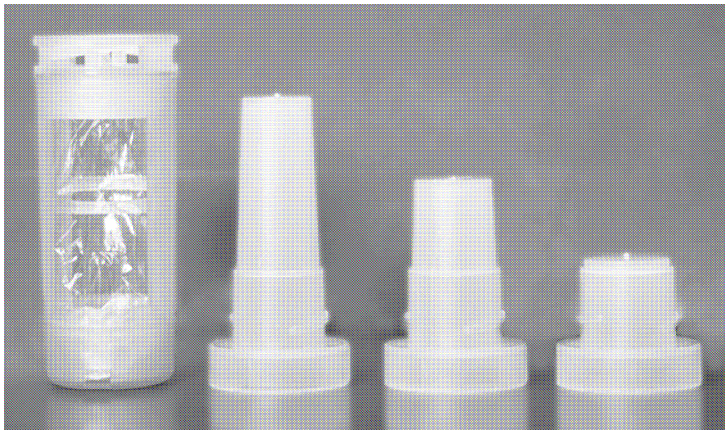
	截留分子量	体积	试剂盒包装	目录号
D-Tube™ Dialyzer Mega	3.5kDa（蓝色）	3-10ml	10个	71739-3
D-Tube Dialyzer Mega	3.5kDa（蓝色）	3-10ml	50个	71739-4
D-Tube Dialyzer Mega	6-8kDa（粉色）	3-10ml	10个	71740-3
D-Tube Dialyzer Mega	6-8kDa（粉色）	3-10ml	50个	71740-4
D-Tube Dialyzer Mega	3.5kDa（蓝色）	10-15ml	10个	71742-3
D-Tube Dialyzer Mega	3.5kDa（蓝色）	10-15ml	50个	71742-4
D-Tube Dialyzer Mega	6-8kDa（粉色）	10-15ml	10个	71743-3
D-Tube Dialyzer Mega	6-8kDa（粉色）	10-15ml	50个	71743-4
D-Tube Dialyzer Mega	3.5kDa（蓝色）	15-20m	10个	71745-3
D-Tube Dialyzer Mega	3.5kDa（蓝色）	15-20ml	50个	71745-4
D-Tube Dialyzer Mega	6-8kDa（粉色）	15-20ml	10个	71746-3
D-Tube Dialyzer Mega	6-8kDa（粉色）	15-20ml	50个	71746-4
Floating Racks, Mega	-	-	10个	71748-3

试剂盒概述

D-Tube™ 透析管为生物样品制备提供了极为方便、通用的操作系统。该系统包括两种操作模式——透析和电洗脱，能够高效地替换样品缓冲液或从凝胶中抽提蛋白质、DNA或RNA。所有操作只需在一支离心管中进行，简单快捷，适合在很多实验条件下使用。样品操作中不再需要注射器，微量离心，专门的电洗脱装置或是重复繁琐的操作步骤，只需实验室常规移液器进行样品的添加和移除即可。D-Tube™透析管的双膜设计（可以方便地监测样品水分挥发过程）和大表面积使其亦可用来浓缩生物样品。

D-Tube™ 透析管按容量不同分为几种型号：Mini型（10-250μl），Midi型（50-800μl），Maxi型（500-3000μl）和Mega型（分别有3-10ml，10-15ml，15-20ml三种载样体积）。Maxi型号的D-Tube™ 透析管试剂盒中包括两个盖子，可以方便将透析管的容量分别调节为500-200μl和2000-3000μl。Mega型透析管的截留分子量有两种，以不同颜色区分：3.5kDa（蓝色）和6-8kDa（粉色）；Mega型透析管也配有不同的管帽，以方便地根据需要调整最大载样体积。底管则决定了它的截留分子量，相同颜色的底管（具有相同的截留分子量）可以与不同的管帽（具有不同的最大载样体积）组合使用的（如图1）。D-Tube96™采用96-管的配置形式，其它特征与Mini型D-Tube™ 透析管一致。所有D-Tube

透析管膜都是经超级净化、EDTA处理过的再生纤维素膜，不含硫与重金属。用浓度为35-70μg/ml的酸性、中性或碱性蛋白做测试，证实此种透析管膜对蛋白质的非特异吸附可忽略不计。



A B C D

图1. Mega型号透析管的管帽部分决定了它的最大载样体积。
A，通用Mega型底管；B，3－10ml管帽 C，10－15ml管帽； D，15－20ml管帽。

除了用于透析，D-Tube透析管还可以从变性或非变性聚丙烯酰胺凝胶中特异、有效地抽提和电洗脱蛋白质、蛋白-蛋白和蛋白-核酸复合物，所有操作仅需2小时，并可在从二维双向电泳中高效回收蛋白（见下表1）的同时去除样品中的两性电解质。纯化出的蛋白可以用于MALDI-MS，动物免疫制备抗体（前提是蛋白样品经过透析去除已有缓冲体系），HPLC或肽谱分析。另外，D-Tube透析管还能够用来从聚丙烯酰胺凝胶或琼脂糖凝胶中回收寡聚核苷酸，RNA和DNA。它的适用范围包括从15个残基的寡核苷酸到80kbp的双链DNA。特别方便的是：用D-Tube透析管操作不需要专门的电洗脱装置，D-Tube透析管配套试剂盒(货号71511-3)中提供了适用于三种型号透析管（Mini，Midi，Maxi）的支架，可与多数常用的水平电泳仪兼容。试剂盒同时提供蛋白和核酸沉淀试剂，以及优化过的从纯化后的蛋白样品中彻底去除SDS的缓冲液，使之可以用于之后的MALDI-MS分析。
注意：Mega型透析管一般不用于电洗脱抽提DNA和RNA样品。

表1. 电洗脱后的样品回收效率

从琼脂糖凝胶中回收DNA或RNA	>90%
从聚丙烯酰胺凝胶中回收DNA或RNA	>90%
从SDS-PAGE中回收蛋白质	>60%

试剂盒组分

D-Tube™ 透析管试剂盒
- 10个 D-Tube™ 透析管（Mini，Midi或Maxi）
- 1个 浮架（可插4只小管，漂浮于替换的缓冲液上）

D-Tube96™ 透析管试剂盒
- 1个 96孔D-Tube96™ 透析管（截留分子量6-8kDa或12-14kDa）
- 96个 透析管帽（用于保存未用的透析管）
- 1个 粘性铝箔封口膜

D-Tube电洗脱配套试剂盒
- 1个 Mini型透析管支架
- 1个 Midi型透析管支架
- 1个 Maxi型透析管支架
- 1ml 质谱分析用沉淀缓冲液
- 10ml 20%三氯乙酸
- 2×1ml 3M醋酸钠溶液，pH5.2

Mega型D-Tube™ 透析管试剂盒（10个/50个包装）
- 10个/50个 Mega型D-Tube™透析管
- 1个/5个 浮架

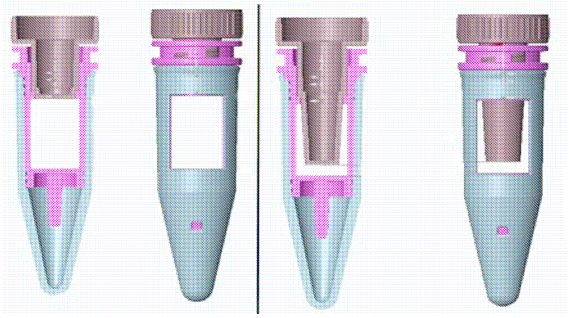
储存
所有组分室温保存即可。

默克生命科学服务热线：400 820 8872
bioteam@merck-china.com

透析与样品浓缩

按照如下操作步骤使用D-Tube™ 透析管（Mini，Midi，Maxi或Mega）透析或浓缩样品。

Maxi型D-Tube™ 透析管配套提供两个管帽，如果样品少于2ml，使用2-ml管帽；如果样品体积在2到3ml之间，使用3-ml管帽。具体如下图2所示。



2000-3000μl　　500-2000μl

图2. Maxi型D-Tube透析管套装包含一个3-ml 管帽（左图）和一个2-ml管帽（右图）。 管帽与透析管的纵切面如每幅图左侧所示，右侧是它们的侧视图。

1. 取下透析管帽并按照表2所示加入适量的去离子水，竖直放置孵育5分钟以上，再轻轻旋上管帽。

表2 不同D-Tube™透析管的透析操作参数

D-Tube™透析管	加入去离子水体积	样品体积
Mini	250μl	10-250μl
Midi	800μl	50-800μl
Maxi（2-ml管帽）	2-3ml	500-2000μl
Maxi（3-ml管帽）	2-3ml	2-3ml
Mega（3-10ml）	10ml	3-10ml
Mega（10-15ml）	15ml	10-15ml
Mega（15-20ml）	20ml	15-20ml

注意：加入样品前预浸润透析管膜是非常重要的，不要跳过步骤1。因为干的膜会吸收水分，造成透析管中水体积的减少。也不要触摸或挤压透析管膜，以免造成膜的损坏。仔细检查膜是否漏水。膜再放干之后，建议不要继续使用。

2. 取下管帽，用移液器把水从透析管中取出。加入样品并轻轻旋紧管帽。如果是用低渗透压的溶液做缓冲液透析高渗透压样品，不要把透析管装满。因为在这样的情况下，透析管内的样品体积将会大大增加，如果预留空间不够，随着体积扩张，透析管膜可能会被涨破。

技巧：如果样品体积很小（Midi≤100μl，Mini≤10μl），上样时最好把样品加在透析管内膜附近，但要注意不要刺破透析管膜。

3. 把D-Tube透析管放在试剂盒中提供的浮架上，并将浮架放在含有100到1000倍体积透析缓冲液和搅拌子的敞口烧杯中，确保膜全部浸入透析缓冲液中。使用Mega型号透析管时，如果样品体积少于5ml，注意透析管膜与管底之间没有气泡。驱赶气泡时，可以将透析管放在浮架上，使其头部管帽与管身结合处靠近浮架，然后把浮架底部5厘米浸入透析缓冲液中，45° 倾斜并轻轻碰触烧杯壁，将气泡赶出。
4. 缓慢彻底搅拌3小时以上。

注意：最优透析平衡时间每个样品都不同，用户需自行确定透析时间。小分子量的盐和缓冲液（例如Tris-HCl或磷酸钾）通常3小时内即可透析达到平衡。为了保证样品充分透析平衡，可能需要过夜透析。粘性样品会需要更长的透析时间。

5. 如果需要，更换透析缓冲液，每个样品所需要的透析次数依具体情况而定。
6. **选做**：如果透析造成样品体积增加，可以将透析管放在支架上并使样品在实验台上缓慢挥发浓缩。加快膜表面的空气流动会提高样品蒸发浓缩过程，每隔10分钟需要检查样品体积以免过分浓缩。

注意：因为在水分蒸发过程中没有扩散发生，样品中的小分子（如缓冲液、盐、还原试剂等）也会被浓缩。

7. 将管帽从透析管上取下，小心从透析管中吸出样品并转移至干净的离心管中。

用D-Tube96™ 透析管透析样品

D-Tube96™ 透析管可以用来高通量地透析蛋白，寡核苷酸，RNA和DNA样品，且可以与iFOLD™蛋白复性系统合用（参考用户操作手册TB457和TB467），在确定最佳复性条件后把蛋白样品的缓冲液替换为测试缓冲液。

D-Tube96透析管是模块化的，如果一次使用的透析管少于96个，可以将多余的透析管取下并加盖管帽保存。管帽在试剂盒中提供。

注意：D-Tube96™ 透析管模块中的透析管应正确放置，即每个D-Tube96™ 透析管顶端都要比白色塑料板格高1-2mm。

单个D-Tube96透析管的透析膜不需要保证在某一特定方向，样品缓冲液的交换速度在透析管的膜处于任何方向时都基本一致。

1. 取下不会用到的D-Tube96透析管。
2. 向需要使用的D-Tube96透析管中加入250μl去离子水。把移液器枪头伸到透析管底部并缓慢滴加去离子水，避免产生气泡。孵育5分钟以上。

注意：加入样品前预浸润透析管膜是非常重要的，不要跳过步骤2。因为干的膜会吸收水分，造成透析管中水体积的减少。也不要触摸或挤压透析管膜，以免造成膜的损坏。仔细检查膜是否漏水。膜再放干之后，建议不要继续再使用。

3. 用移液器把水从透析管中取出，小心不要刺破透析膜。
4. 向每个透析管内加入样品，把移液器枪头伸到透析管底部并缓慢滴加样品，避免产生气泡。

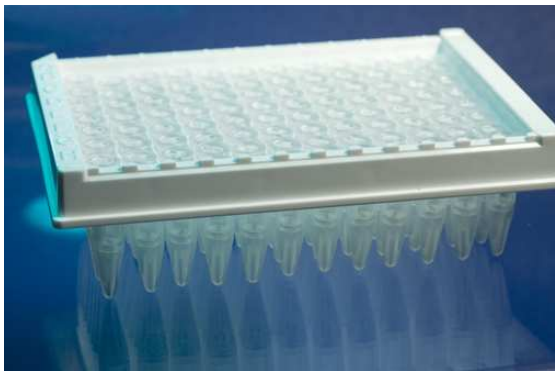


图3. D-Tube96™ 透析管

注意：单个透析管的最大容量是250μl，不过根据不同的样品组分和缓冲体系，样品体积可以增加或减少。如果使用iFOLD™蛋白复性系统后继续使用D-Tube96透析管更换样品缓冲液，只能向每个透析管中加入125μl复性反应体系。因为有些蛋白复性缓冲液中盐浓度非常高（>0.5M），当用常规的透析缓冲液进行透析时，可能会造成样品体积的极大增加，从而涨破透析管膜。

5. 用粘性铝箔密封D-Tube96透析管，确保每个透析管边缘都抹有密封油。
6. 把D-Tube96透析管放在装有透析缓冲液和搅拌子的敞口烧杯中，保证透析液容器空间足够大使D-Tube96透析管能够自由转动，否则透析效率将会降低。
7. 温和彻底搅拌4小时以上。
8. 去除粘性铝箔封口膜，小心从透析管中吸取样品并转移至干净离心管中。
9. **选做**：如果透析造成样品体积增加，可以将透析管放在支架上并使样品在实验台上缓慢挥发浓缩。加快膜表面的空气流动会提高样品蒸发浓缩过程，每隔10分钟需要检查样品体积以免过分浓缩。

注意：因为在水分蒸发过程中没有扩散发生，样品中的小分子（如缓冲液、盐、还原试剂等）也会被浓缩。

从聚丙烯酰胺凝胶中电洗脱蛋白

下面的操作步骤描述了用D-Tube™ 透析管从各种凝胶中电洗脱蛋白或蛋白复合物的基本实验流程。电洗脱可以用于从非变性和变性聚丙烯酰胺凝胶，一维或二维聚丙烯酰胺凝胶以及等电聚胶电泳纯化蛋白或蛋白复合物。

为了提高从聚丙烯酰胺凝胶中电洗脱蛋白的效率，要避免用之前固定剂处理蛋白（例如，用甲醇或乙酸处理凝胶等）。**固定剂会大大降低抽提物得率**。RAPIDStain™（Calbiochem货号 553215）是一种超灵敏的考马斯亮蓝染色试剂，可以用于聚丙烯酰胺凝胶的染色并于蛋白抽提操作兼容。它不需要混合、固定或者脱色，在5-10分钟内可以给蛋白着色。

D-Tube透析管可高效回收蛋白，继而用于MALDI-MS等分析。D-Tube电洗脱配套试剂盒提供的质谱用沉淀缓冲液可以从样品中彻底去除SDS，以利于更灵敏的MALDI-MS分析。如果需要对样品进行MALDI-MS分析，按照下面的***MALDI-MS分析特别注意***实验步骤操作。

电洗脱操作流程——蛋白

1. 取下透析管帽并按照表3所示加入适量的去离子水，竖直放置孵育5分钟以上，轻轻旋上管帽。

注意：加入样品前预浸润透析管膜是非常重要的，不要跳过步骤1。因为干的膜会吸收水分，造成透析管中水体积的减少。也不要触摸或挤压透析管膜，以免造成膜的损坏。仔细检查膜是否漏水。膜再放干之后，建议不要继续使用。

2. 凝胶染色后，用干净锋利的刀片将含有目的蛋白条带或斑点的部分切下，并修切掉多余的凝胶（关于凝胶染色请参考前述建议方法，不要用固定过的凝胶）。
3. 取下管帽并用移液器把去离子水从透析管中取出，小心不要刺破透析膜。将切割好的凝胶放入透析管中，每个不同型号透析管中能装的最大凝胶体积如表3所示。在膜的上端加入电洗脱缓冲液（所加缓冲液体积请参照表3），常规的SDS-PAGE电洗脱缓冲液可以用于标准的质谱分析，如果样品要进行MALDI-MS分析，请参照下文的沉淀缓冲液配方。添加缓冲液时应避免引入气泡，这样会干扰电洗脱过程。轻轻旋上管帽。

注意：*将大块的凝胶放入切割分装到多个透析管中。*

MALDI-MS分析特别注意：*用于MALDI-MS分析的标准蛋白电洗脱缓冲液为250mM Tricine，25mM Tris-base，0.025% SDS，pH 8.5*

表3 不同D-Tube™透析管的电洗脱操作参数

D-Tube™ 透析管	加入去离子水体积	最大凝胶块体积	加入电洗脱缓冲液体积
Mini	0.25ml	0.4cm×1.1cm×1mm	0.25ml
Midi	0.8ml	0.5cm×1cm×1mm	0.7-0.8ml
Maxi	2.5-3.0ml	2cm×1cm×1mm	2.5-3.0ml

4. 将透析管放在合适大小的支架上（见图4）。透析管的两侧的膜必须与电泳区垂直以保证电流可以通过透析管。
注意：支架可以承载1-4个Mini或Midi型透析管，或者1-3个Maxi型透析管。

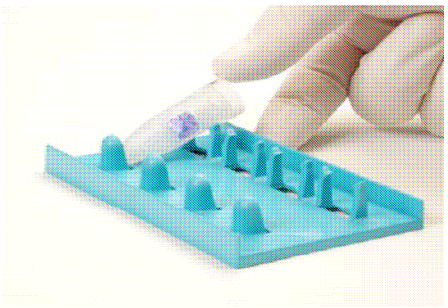


图4. 在支架上放置Midi型D-Tube透析管示意图。透析管两侧的膜必须与电泳区垂直以保证电流可以通过透析管。

5. 将装有透析管的支架放入水平电泳槽内（例如用来做DNA琼脂糖凝胶电泳的槽），加入电洗脱缓冲液。
重要：将透析管完全浸没在电洗脱缓冲液中。
6. 电泳槽两端加上电压（通常100V）开始电洗脱，直到蛋白都从凝胶切块中分离出来。通常用的电泳时间请参照表4。每次洗脱的最优电泳时间随样品特点和凝胶浓度而不同，需要用户自行摸索。例如，从10%SDS-PAGE中电洗脱BSA蛋白（66kDa）至少需要85分钟。

技巧：可以用蛋白染色剂的电洗脱程度监测蛋白洗脱情况，当绝大多数蛋白染色剂从凝胶中洗脱出后，大部分蛋白也基本被洗脱出来。

MALDI-MS分析特别注意：*由于用于MALDI-MS分析的蛋白样品常常用含有很少SDS的凝胶分离制备，相应地电洗脱所用的电压通常是150V。例如，此种条件下从10% SDS-PAGE中电洗脱BSA蛋白至少需要2小时。*

7. 将电极反接继续电洗脱2分钟，使蛋白从透析管的膜上脱离。
8. 轻轻打开透析管，在膜内侧缓慢地上下吸取电洗脱液至少5次，小心避免吸到凝胶块并不要戳破透析管膜。将洗脱液转移至干净的离心管中。
9. 14,000×g离心洗脱液1分钟使凝胶残留物沉淀。
10. 将上清转移至干净的离心管中，蛋白可以直接进行下面的操作、用常规浓缩方法浓缩（参考下文的*蛋白沉淀*操作流程）或者透析。如果需要，可以用同一只电洗脱的透析管来透析蛋白。小心去除凝胶残块，保证不要戳破透析管膜。具体透析操作请参照上文***透析与样品浓缩***。

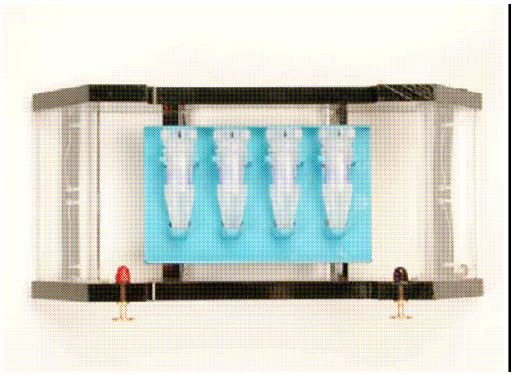


图5. 装有透析管的支架放在水平电泳槽中，膜与电泳方向垂直保证电流通过透析管。

洗脱时间——蛋白

电洗脱时间受多种因素影响，包括洗脱蛋白的分子量大小，所用电压，凝胶切块大小，聚丙烯酰胺：甲叉双丙烯酰胺配比以及聚丙烯酰胺的浓度。请参考表4。

重要：每个样品所需的最优电泳时间是不同的。

表4. 100V电压条件下，从10% SDS-PAGE（29:1聚丙烯酰胺:甲叉双丙烯酰胺）中电洗脱蛋白所需最少时间

蛋白分子量（kDa）	时间（分钟）		
	Mini型	Midi型	Maxi型
14	30-40	35-45	50-60
18.4	35-45	*	55-65
19-26	*	45-55	*
25	40-50	*	70-80
29	*	55-65	*
35	50-60	*	110-120
40	*	60-70	*
45	55-65	65-75	130-140
50	*	75-85	*
66	70-80	85-95	150-160
81	*	105-115	*
116	90-100	120-130	180-190
128	*	140-150	*

*未测定

蛋白沉淀

D-Tube电洗脱配套试剂盒提供的蛋白沉淀缓冲液可以有效地沉淀透析后的蛋白样品。操作流程如下描述。

除此之外，ProteoExtract™蛋白沉淀试剂盒（货号539810）也可以用于快速有效地沉淀和纯化蛋白样品。

三氯乙酸（TCA）蛋白沉淀操作步骤

1. 向样品中加入1体积的20% TCA溶液，振荡充分混匀。
2. **选做**：对于用来进行标准MS分析或MALDI-MS分析的蛋白样品，加入0.1体积的MS沉淀缓冲液，充分混匀并室温孵育15分钟，然后加入0.5体积的20% TCA溶液（标准MS分析）或0.2体积的50% TCA溶液（MALDI-MS分析，试剂盒不提供50% TCA溶液）。振荡充分混匀并继续步骤3。
3. 4℃孵育1小时。
4. 4℃，14,000×g离心样品30分钟。吸取上清并小心不要碰到沉淀。
5. 加入冰预冷的100%丙酮（试剂盒未提供）清洗沉淀（根据沉淀大小不同，使用500μl-2ml的丙酮清洗），振荡充分混匀。
6. -20℃孵育至少30分钟。

小技巧：-20℃过夜孵育可以提高蛋白沉淀效率。

7. 4℃，14,000×g离心样品30分钟。吸取上清并小心不要碰到沉淀。
8. 在通风罩中彻底晾干沉淀（约1小时）。将沉淀重新溶解在0.1N NaOH（试剂盒未提供）或去离子水中。

注意：保证沉淀完全干燥非常重要，否则将很难被重新溶解。如果用去离子水重溶沉淀，首先将其60℃孵育5分钟，加入去离子水，继续在60℃孵育5分钟。

***MALDI-MS分析特别注意：**需要使用适合MALDI-MS分析的缓冲液重溶蛋白沉淀，蛋白的性质对于决定使用何种缓冲液非常重要。*

从凝胶中抽提核酸

从聚丙烯酰胺或琼脂糖凝胶中抽提DNA或RNA的操作步骤：

1. 取下透析管帽并按照表5所示加入适量去离子水，竖直放置孵育5分钟以上，轻轻旋上管帽。

注意：加入样品前预浸润透析管膜是非常重要的，不要跳过步骤1。因为干的膜会吸收水分，造成透析管中水体积的减少。也不要触摸或挤压透析管膜，以免造成膜的损坏。并且仔细检查膜是否漏水。

膜再次放干之后，建议不要继续再使用。

2. 用干净锋利的刀片将含有DNA或RNA的部分切下，并修切掉多余的凝胶。
3. 取下管帽并用移液器把去离子水从透析管中取出，小心不要刺破透析膜。将切割好的凝胶放入透析管中，每个不同型号透析管中能装的最大凝胶体积如表5所示。加电洗脱缓冲液至膜的上端（所加缓冲液体积请参照表5）。添加缓冲液时应避免引入气泡，这样会干扰电洗脱过程。轻轻旋上管帽。

注意：电洗脱时使用与凝胶电泳分离相同的缓冲液，将大块的凝胶分别装在不同的透析管内。

4. 将透析管放在专用配套支架上（见图4）。透析管两侧的膜必须与电泳区垂直以保证电流可以通过透析管。
5. 将装有透析管的支架放入水平电泳槽内（例如用来做DNA琼脂糖凝胶电泳的电泳槽），加入电洗脱缓冲液。

表5 不同型号透析管的电洗脱参数

D-Tube™ 透析管	加入去离子水体积	最大凝胶块体积	加入电洗脱缓冲液体积
Mini	0.25ml	0.4cm×1.1cm	0.25ml
Midi	0.8ml	0.5cm×1cm	0.7-0.8ml
Maxi	2.5-3.0ml	2cm×1cm	2.5-3.0ml

6. 电泳槽两端加上电压（通常80-150V）开始电洗脱，直到核酸都从凝胶切块中分离出来。通常用的电泳时间请参照表4。每次洗脱的最优电泳时间根据样品特点和凝胶浓度而不同，需要用户自行摸索。常用的电洗脱时间请参考表6-8。

小技巧：如果凝胶用溴化乙锭或SYBR® Green染色，可以用便携式或台式紫外灯监控核酸抽提进程。

7. 将电极反接继续电洗脱2分钟，使核酸从透析管的膜上脱离。
8. 轻轻打开透析管，在膜内侧缓慢地上下吸取电洗脱液至少5次，小心避免吸到凝胶块并不要戳破透析管膜。将洗脱液转移至另一干净的离心管。
9. 14,000×g离心洗脱液1分钟使凝胶残留物沉淀。
10. 将上清转移至另一干净的离心管中，用常规标准方法浓缩样品或参考下文的核*酸沉淀沉淀*操作流程。

洗脱时间——核酸

电洗脱时间受多种因素影响，包括洗脱核酸片段大小，所用电压，凝胶切块大小，凝胶浓度以及聚丙烯酰胺：甲叉双丙烯酰胺配比。表6-8列出了从聚丙烯酰胺凝胶和琼脂糖凝胶中抽提不同大小DNA和RNA所需的时间。

重要：每个样品所需的最优电泳时间是不同的。

表6. 100-150V电压条件下从自然或变性4%聚丙烯酰胺凝胶（29:1聚丙烯酰胺:甲叉双丙烯酰胺）中洗脱不同大小DNA片段所需最少时间

DNA 片段大小（bp）	时间（分钟）		
	Mini型	Midi型	Maxi型
100	10-15	10-20	10-15
200	15-20	*	15-20
300	*	15-25	*
500	30-35	20-30	30-35
822	*	25-35	*
1000	55-60	*	55-60
1044	*	30-40	*
1400	75-80	*	75-80
2700	*	45-55	*

*未测定

表7. 100-150V电压条件下从自然或变性4%聚丙烯酰胺凝胶（29:1聚丙烯酰胺:甲叉双丙烯酰胺）中洗脱不同大小RNA片段所需最少时间

RNA 片段大小（bp）	时间（分钟），Midi型
100	15-25
400	25-35
600	35-45
1000	45-55

表8. 80-110V电压条件下从1%琼脂糖凝胶中电洗脱不同大小DNA片段所需最少时间

DNA 片段大小（bp）	时间（分钟）		
	Mini型	Mini型	Mini型
100-200	*	10-20	*
500-700	10-15	15-20	10-15
1000	15-20	20-30	15-20
2000	25-30	*	25-30
4361	*	25-35	*
5000	40-45	*	40-45
6557	*	45-55	*
8000	50-55	*	50-55
9416	*	55-65	*
10000	55-60	*	55-60
23130	*	70-80	*

*未测定

核酸沉淀

D-Tube电洗脱配套试剂盒提供的3M醋酸钠，pH5.2溶液可以有效地沉淀电洗脱后的核酸样品。流程如下：

1. 向核酸样品中加入0.1倍体积的3M醋酸钠，pH5.2溶液和2倍体积的100%乙醇或1倍体积100%异丙醇，轻轻振荡混匀。
2. 室温孵育5分钟。
3. 14,000×g离心5分钟，吸掉上清并用70%乙醇洗沉淀，轻轻振荡并重复70%乙醇清洗。
4. 吸走上清，用100%乙醇洗沉淀并如步骤3中离心。吸掉上清后，风干沉淀使乙醇挥发干净，将沉淀重溶于去离子水或其他缓冲液中。

常见问题解答——电洗脱

现象	可能原因	解决方案
产量过低	洗脱时间不够	增加洗脱时间或提高洗脱电压
	洗脱结束后没有反接电极	洗脱结束后电极反接继续电洗脱2分钟
	透析管没有完全浸没在洗脱缓冲液中	将透析管完全浸没在洗脱缓冲液中，使用专用支架
	凝胶切块没有完全浸没在透析管的缓冲液中，或者透析管缓冲液中有气泡	凝胶切块放入透析管后，加入电洗脱缓冲液或去离子水至膜的顶端，确保没有气泡产生
	凝胶切块体积超过推荐值	不要将过大的凝胶切块放在一个透析管中，可将胶块再切小，分到几个透析管中操作
	透析管放置方向不对，电流无法流过透析管	透析管的两侧膜必须与电泳方向相垂直
洗脱时间过长	洗脱电压过低	提高洗脱电压
	凝胶切块没有完全浸没在透析管的缓冲液中，或者透析管缓冲液中有气泡	凝胶切块放入透析管后，加入电洗脱缓冲液或去离子水至膜的顶端，确保没有气泡产生
	透析管没有完全浸没在洗脱缓冲液中	将透析管完全浸没在洗脱缓冲液中，使用专用支架
洗脱后样品体积减小	透析管膜没有预浸润	加入样品前用去离子水浸润管膜5分钟
	透析管膜破裂	使用新的无破损透析管