

胶回收/PCR产物纯化试剂盒

产品货号: 26771

产品规格: 50次/100次/200次

产品简介:

本试剂盒适用于琼脂糖凝胶DNA回收、PCR产物纯化回收、酶切产物DNA片段纯化回收、探针标记后纯化回收、DNA样品浓缩等。使用本产品可回收100bp-20kb大小的DNA片段。

在高离序盐存在的情况下，DNA片段选择性吸附于离心柱内的硅基质膜上，通过一系列快速漂洗、离心的步骤去除其他杂质，最后低盐、高pH值的洗脱缓冲液将纯净DNA从硅基质膜上洗脱。

产品组成:

产品名称	50次	100次	200次	保存条件
平衡液	6mL	12mL	24mL	室温
溶胶/结合液DB	30mL	60mL	120mL	室温
漂洗液WB	15mL	15mL×2	20mL×3	室温
	第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇			
	60mL	60mL×2	80mL×3	
洗脱缓冲液EB	10mL	15mL	20mL	室温
吸附柱EC	50个	100个	200个	室温
收集管（2mL）	50个	100个	200个	室温

自备材料: 无水乙醇。

注意事项:

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项！

- 溶胶/结合液DB中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要立即用大量清水或生理盐水冲洗。
- 使用水进行洗脱时，应确保pH大于7.5，pH过低影响洗脱效率。用水洗脱，DNA片段应保存在-20℃。若需长期保存，可以用TE缓冲液洗脱（10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH8.0），但是EDTA可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。
- 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH值变化，各溶液使用后应立即拧紧瓶盖。
- 所有离心操作步骤，均在室温（15-25℃）下进行。
- 平衡液在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至37℃使沉淀完全消失后使用。
- 第一次使用前请先在漂洗液WB瓶中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！

使用方案:

I. 琼脂糖凝胶纯化回收:

- 柱平衡步骤：取硅胶膜吸附柱EC放入收集管中，向每个吸附柱硅胶膜中间部位加入100μL的平衡液，12000rpm（13,400×g）离心1min，倒掉收集管中废液，将吸附柱重新放回收集管中，备用。
- 在长波紫外灯下，用干净刀片将所需回收的DNA条带切下，放入1.5mL离心管，称重。
▲先称一个空1.5mL离心管重量，然后放入凝胶块后再称一次，两次重量相减，得到凝胶的重量。
- 加1倍体积溶胶/结合液DB，放置于56℃水浴锅中溶胶，直至胶完全溶解（5-10min），期间每2-3min上下颠倒几次帮助加速溶解。
▲若凝胶重为100mg，其体积可视为100μL，则加入100μL溶胶/结合液DB。
▲增加溶胶/结合液DB使用量不会影响其回收效率。例如凝胶重为100-300mg，可统一加300μL溶胶/结合液DB。
- 将上一步所得溶液平衡至室温后，瞬时离心收集管壁上的液滴，吸取溶液加入吸附柱EC中（吸附柱放入收集管中），室温放置1min，12,000rpm（13,400×g）离心30-60s，倒掉收集管中的废液。
▲如果总体积超过750μL，可将溶液分两次加入同一个吸附柱EC中。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

▲过滤后的溶胶/结合液DB和收集管内残存的强碱性平衡液混合后，溶胶/结合液DB可能会从黄色变成橘红甚至紫色，此为酚红pH指示剂碱性条件下的正常颜色变化，不影响实验结果。

5. 加入600 μ L漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm（13,400 $\times$ g）离心30s，弃掉废液。重复此步骤。
▲如果回收的DNA是用于盐敏感实验，例如：平末端链接实验或直接测序，建议漂洗液WB加入后静置3-5min再离心。
6. 将吸附柱EC放回空收集管中，12,000rpm（13,400 $\times$ g）离心2min。
7. 取出吸附柱EC，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加30-50 μ L洗脱缓冲液EB，12,000rpm（13,400 $\times$ g）离心1min。
▲洗脱缓冲液事先在65-70 $^{\circ}$ C水浴中加热效果更好。
▲如果需要较多量DNA，可将得到的溶液重新加入吸附柱中，离心1min。
▲洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要DNA浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于30 μ L，体积过小会降低DNA洗脱效率，减少产量。

II. PCR产物或酶切产物等DNA纯化：

1. 柱平衡步骤：取硅胶膜吸附柱EC放入收集管中，向每个吸附柱硅胶膜中间部位加入100 μ L的平衡液，12000rpm（13,400 $\times$ g）离心1min，倒掉收集管中废液，将吸附柱重新放回收集管中，备用。
2. 一定体积PCR扩增体系或酶切后体系加入1倍体积溶胶/结合液DB，充分混匀。
▲增加溶胶/结合液DB使用量不会影响其回收效率。例如100-300 μ L体系，可统一加300 μ L溶胶/结合液DB。
3. 将上一步所得溶液加入吸附柱EC中（吸附柱放入收集管中），室温放置1min，12,000rpm（13,400 $\times$ g）离心30-60s，倒掉收集管中的废液。
4. 从此步骤开始和琼脂糖凝胶DNA纯化回收的操作步骤I.5-I.7完全一致，请参见琼脂糖凝胶DNA纯化回收的操作步骤I.5-I.7。

流程简图：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>