

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。

在高离子盐存在的情况下，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（10mMTris-HCl，1mMEDTA，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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.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。

- 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。

- 将吸附柱 EC 放回空收集管中, 12,000rpm (13,400 \times g) 离心 2min。
- 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:

- 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。
- 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。
- 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。
- 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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzybio@126.com