



产品组分

组分名称	组分编号	规格-1	规格-2
		50 RXN	200 RXN
Buffer DB	RM30102	28 mL	110 mL
Buffer W1	RM30332	24 mL	75 mL
Elution Buffer	RM30333	15 mL	25 mL
Spin Column & Collection Tube	RM30180	50 pk	4 × 50 pk

*注: 50 RXN Buffer W1 使用前加入 56 mL 无水乙醇; 200 RXN Buffer W1 使用前加入 175 mL 无水乙醇。

产品说明

本试剂盒既可以从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段,也可用于直接纯化 PCR 产物,回收多至 10 µg DNA(80 bp~10 kb),回收率可达 65~85%。琼脂糖凝胶在高离序盐中(Buffer DB)溶解后, DNA 片段选择性吸附于离心柱内的硅基质膜上。回收后的 DNA 纯度高,并能保持片段完整性和高生物学活性,可直接用于测序、连接、PCR 扩增、体外转录等分子生物学实验。

保存温度

室温 (10~25°C) 干燥条件下保存。

产品特点

1. 快速: 胶块无需称重, 操作简便;
2. 高效: 回收效率高, 获得的目的 DNA 纯度高;
3. 适用性广: 一盒两用, 可用于 DNA 片段凝胶回收及 PCR 产物直接回收。

注意事项

1. Buffer W1 使用前加入指定量的无水乙醇, 加入后请及时打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入。
2. 各溶液使用后应及时拧紧盖子, 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化。
3. 若回收凝胶中的 DNA 片段, 电泳时应使用新的电泳缓冲液, 以免影响电泳和回收效果。
4. 建议使用高质量的琼脂糖, 以免其中杂质影响下游连接等实验。
5. Buffer DB 中含刺激性溶液, 操作时要戴乳胶手套和眼镜。
6. 回收产物可通过琼脂糖电泳或分光光度计检测是否回收成功。使用分光光度计时, 若使用 Elution Buffer 进行洗脱, 建议使用 Elution Buffer 进行校准。

操作说明

琼脂糖凝胶回收

1. 在 365 nm 长波紫外灯下，用干净刀片将目的条带切下，尽量切除不含目的 DNA 条带，得到凝胶体积越小越好。
注：切胶时，为避免紫外照射时间过长对 DNA 造成损伤，建议快速切胶。
2. 将含有目的 DNA 条带的凝胶放入 2 mL 离心管中，加入 500 μ L 的 Buffer DB。
3. 65°C 水浴 4~6 min，每 2~3 min 上下颠倒混匀一次至凝胶完全融化，溶液呈淡黄色。
注：若胶块过大，适当添加 Buffer DB 至溶液呈淡黄色。
4. 将溶液转入吸附柱 Spin Column 中，12,000 $\times$ g 离心 1 min，弃废液，将吸附柱 Spin Column 放回空收集管。
5. 在吸附柱 Spin Column 中加入 600 μ L Buffer W1（**请先检查是否已加入指定体积的无水乙醇**），12,000 $\times$ g 离心 1 min，弃废液。
注：如果回收的 DNA 是用于克隆实验或直接测序等，建议 Buffer W1 加入后静置 2~5 min 再离心。
6. 重复步骤 5 一次。
7. 将吸附柱 Spin Column 放回空收集管中，12,000 $\times$ g 离心 2 min。
8. 取出吸附柱，置于干净的 1.5 mL 离心管中，20~25°C 开盖静置 2 min，彻底晾干以免漂洗液中残留乙醇影响下游反应。
9. 在吸附膜的中间部位加 35~50 μ L Elution Buffer（为提高洗脱效率，洗脱液可预先在 60~65°C 水浴中加热），20~25°C 放置 2 min，12,000 $\times$ g 离心 2 min。如需较多量 DNA，可将得到的溶液重新转入吸附柱中，离心 2 min。
注：洗脱体积越大，洗脱率越高。若需得到较高浓度的 DNA，可以适当减少洗脱体积，但最小体积应不少于 25 μ L，体积过大会降低 DNA 洗脱率，降低产量。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若后续做测序，需使用 ddH₂O 洗脱，保证 pH 值在 7.0~8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。DNA 产物应保存在 -20°C 以防 DNA 降解。

PCR 产物或者酶切片段等 DNA 纯化

1. 按照 PCR 原液：Buffer DB=1：3 的比例加入 Buffer DB（不少于 150 μ L）后吸打混匀（如：在 1.5 mL 离心管中，50 μ L PCR 原液加入 150 μ L Buffer DB 后吹打混匀）。
注：若 PCR 原液体积小于 50 μ L，直接加入 150 μ L Buffer DB 即可。
2. 将溶液转入吸附柱 Spin Column 中，12,000 $\times$ g 离心 1 min，弃废液，将吸附柱 Spin Column 放回空收集管。
3. 在吸附柱 Spin Column 中加入 600 μ L Buffer W1（**请先检查是否已加入指定体积的无水乙醇**），12,000 $\times$ g 离心 1 min，弃废液。
注：如果回收的 DNA 是用于克隆实验或直接测序等，建议 Buffer W1 加入后静置 2~5 min 再离心。
4. 重复步骤 3 一次。
5. 将吸附柱 Spin Column 放回空收集管中，12,000 $\times$ g 离心 2 min。
6. 取出吸附柱，置于干净的 1.5 mL 离心管中，20~25°C 开盖静置 2 min，彻底晾干以免漂洗液中残留乙醇影响下游反应。
7. 在吸附膜的中间部位加 35~50 μ L Elution Buffer（为提高洗脱效率，洗脱液可预先在 60~65°C 水浴中加热），20~25°C 放置 2 min，12,000 $\times$ g 离心 2 min。如需较多量 DNA，可将得到的溶液重新转入吸附柱中，离心 2 min。
注：洗脱体积越大，洗脱率越高。若需得到较高浓度的 DNA，可以适当减少洗脱体积，但最小体积应不少于 25 μ L，体积过大会降低 DNA 洗脱率，降低产量。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若后续做测序，需使用 ddH₂O 洗脱，保证 pH 值在 7.0~8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。DNA 产物应保存在 -20°C 以防 DNA 降解。