



北京博凌科为生物科技有限公司

Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.

Tel: 010-57158602/52872342/80773165 (Fax)

[Http://www.blkwbio.com/](http://www.blkwbio.com/)

E-mail: blkwbio@blkwbio.com

- ◆ PAGE 胶回收试剂盒
- ◆ 目录号 1305
- ◆ 使用手册
- ◆ 实验室使用，仅用于体外

PAGE 胶回收试剂盒 PAGE Extraction Kit

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次 (130501)
平衡液	室温	5ml
Binding Buffer	室温	40 ml 第一次使用前按说明加指定量异丙醇
Diffusion Buffer	室温	30ml
漂洗液 WB	室温	15 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml
吸附柱 EC	室温	50 个
收集管 (2ml)	室温	50 个

按照指定温度储存，12 个月内不影响使用效果。

储存事项：避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ 产品介绍:

本试剂盒采用新型硅基质膜离心柱及特殊的缓冲液系统，可从聚丙烯酰胺凝胶中简捷高效回收 20bp-500bp 的短片段 DNA 片段，回收效率可高达 85%。并可最大限度去除杂质，获得高纯度的 DNA，所得到的 DNA 可直接用于酶切、连接、测序等后续分子生物学试验。

❖ **产品特点：**

1. 适用范围广泛，可以回收 20bp-2kb 的单链或者双链 DNA。
2. 使用了优质结合液，不含传统结合液的碘化钠和高氯酸盐，不抑制回收后酶切、连接克隆等下游反应。
3. 独特的配方保证了该试剂盒比一般试剂盒回收效率大大提高。
4. 快速、方便离心柱型，不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀。

❖ **注意事项**

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000rpm的传统台式离心机。
2. 结合液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者生理盐水冲洗。**
3. 电泳时最好使用新的电泳缓冲液，以免影响电泳和回收效果。
4. 切胶时，紫外照射时间应尽量短，以免对DNA造成损伤。也可以选择可见光染料染色后在可见光下切胶会避免紫外对DNA损伤。
5. 回收率与片段大小、凝胶浓度、初始DNA量和洗脱体积有关。

❖ 关于平衡液的使用

1. **介绍：**核酸吸附硅胶膜柱子长期放置过程中会同空气中的电荷/尘埃发生反应而影响其核酸的结合能力。硅胶柱经平衡液预处理后可大大减少柱子中硅胶膜的憎水基团，提高核酸的结合能力。从而提高硅胶柱子回收效率或者产量。平衡液是强碱性溶液，若不小心碰到，请用大量自来水清洗。用完后需盖紧瓶盖，以免接触空气。室温保存。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。
2. **什么情况下使用：**一般刚买来 2, 3 个月的新硅胶柱子不需要使用平衡液。时间存放较长吸附效率降低的硅胶柱子，可使用平衡液进行预处理来提高硅胶柱子结合能力从而提高核酸产量。或者预期片段难回收，或者回收起始量低预期产量低的情况，也可使用平衡液来提高回收效率。
3. **使用方法：**取一个新的硅胶膜吸附柱子装在收集管中，吸取 100 μ l 的平衡缓冲液至柱子中。13,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中废液，将吸附柱子重新放回收集管。此时平衡液预处理柱子完毕。接后续的操作步骤。

❖ 操作步骤

提示:

⇒ 第一次使用前请先在 Binding Buffer 瓶中加入指定量**异丙醇!**

⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入!

1. 切取含 DNA 片段的 PAGE 凝胶 (100 mg 左右，尽可能多地把多余的胶切除，否则会影响回收效率)，放入 1.5 mL 离心管中，用移液枪头尽可能捣碎 (最好先在酒精灯上将枪头的口烧密闭再用于捣碎)，捣得越细越好。
2. 向凝胶中加入 1-2 倍体积的 Diffusion Buffer (如 100mg 凝胶加入 100-200 μ l Diffusion Buffer)，55℃温浴 30 分钟-2 小时，期间每 15 分钟涡旋震荡混匀，促进胶中 DNA 扩散到溶液中。

一般来说，回收片段越大，DNA 扩散需要的时间越长，100bp 左右的 DNA 片段温浴 30 分钟就可以 (时间长些也不影响回收效果)；如果回收 500bp-1000bp 的 DNA 片段，可以将温浴时间延长 3-5 个小时。也可以 37℃温浴 12-16 小时过夜。

3. 12,000rpm 离心 5 分钟。小心取上清转入新的离心管。记录上清体积。
4. 加入 9 倍上清体积的 Binding Buffer，混匀。

回收片段>100bp 时，加 5 倍上清体积的 Binding Buffer 即可。

5. 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 1 分钟，12,000rpm 离心 30-60 秒，倒掉收集管中的废液。

吸附柱最大容积为 750 μ l，若溶液体积大于 750 μ l，可分批加入。

6. 加入 600 μ l 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!)，12,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
7. 重复步骤 6 一遍。

8. 将吸附柱 EC 放回空收集管中，13,000rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

9. 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，室温放置 2 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。如果需要较高浓度核酸，可将得到的溶液重新加入吸附柱中，离心 1 分钟。

洗脱体积越大，洗脱效率越高。如果需要核酸浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于 25 μ l，体积过小降低核酸洗脱效率，减少产量。