

Biospin Gel and PCR Purification Kit

Biospin 胶回收和 PCR 产物纯化试剂盒

Cat# BSC02M1A

TECHNICAL SUPPORT:

Tel: 0086-571-87774567-5215 or 5211,

Fax: 0086-571-87774553

QQ: 2692451991

Website: www.bioer.com.cn

试剂盒组成 (100T)

成分	数量
Extraction Buffer	170ml
Wash Buffer	16ml
Elution Buffer	20ml
Spin columns	100
说明书	1 份

储存与运输

- ◆ 本试剂盒存于室温（15~25℃）。所有试剂如果适当保存，可以稳定保存 18 个月。
- ◆ 本试剂盒可在常温下运输。

介绍

本试剂盒提供一个即可以从 TBE 或 TAE 电泳缓冲液配置的琼脂糖凝胶中提取高质量 DNA 的简单、快速、有效的技术，适合从浓度≤3%，高、低熔点琼脂糖凝胶中，回收长度为 60bp~23kb 的 DNA 片段，小于 100bpDNA 片段回收率为 10~55%，0.1~10kbDNA 片段回收率可达 80%，大于 10kbDNA 片段回收率为 20~70%。回收的基因组 DNA 可以应用到克隆，测序，限制性酶切等各类下游分子生物学实验。

基本技术参数

提取方法	操作时间	离心柱容积	提取 DNA 片段范围	洗脱液回收率	样本用量
离心柱	16 分钟内完成 2 个样本	750μl	60bp~23kb	≥99%	最大 400mg 凝胶条

适用琼脂糖种类	适用电泳缓冲液	温育温度
高/低熔点琼脂糖	TAE/TBE 缓冲液	50℃（低熔点琼脂糖） 55℃（普通琼脂糖）

需要的配套设备和材料

- * 无菌 1.5ml/2ml 离心管
- * 各种规格移液器和无菌移液器吸头
- * 无水乙醇
- * 异丙醇 *可能需要 3M KAc (pH5.0)
- * 漩涡振荡器
- * 离心机(最大转速>14,000g)

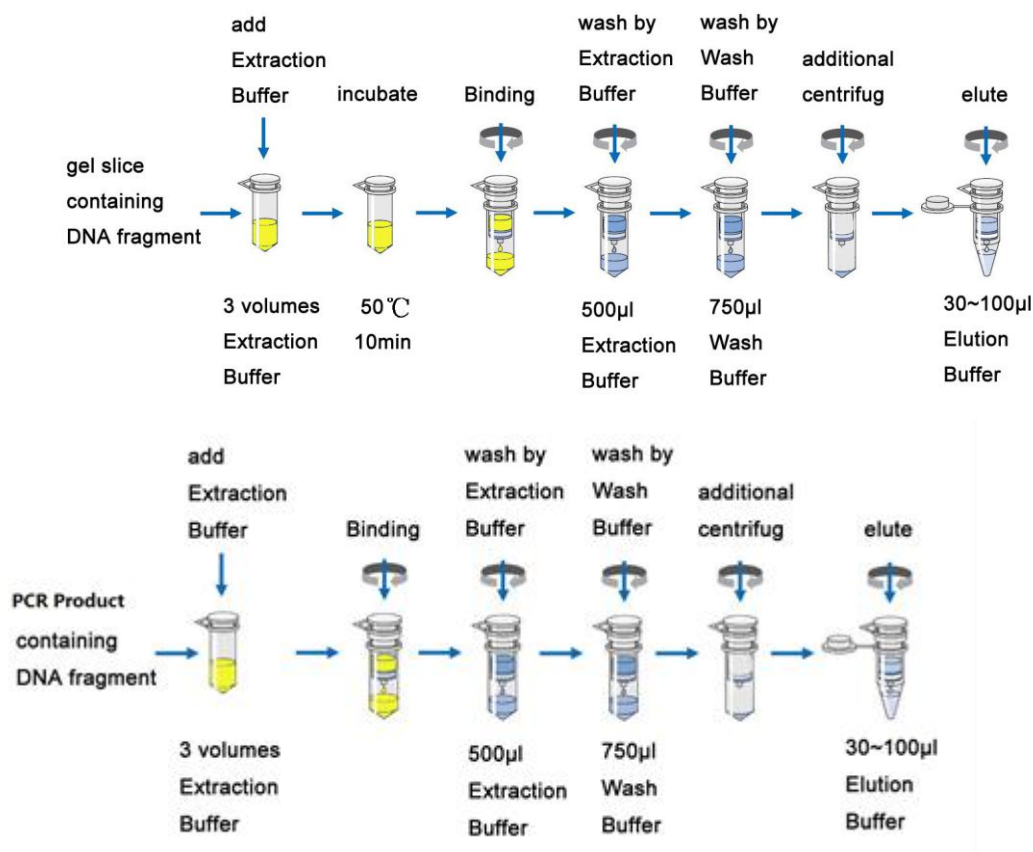
注意事项:

1. Extraction Buffer 显黄色，表明其 pH 值≤7.8
2. 使用前按瓶身标签标明的量（64ml）加入无水乙醇，并将其混匀。
3. 结合液用好后，请立即盖好盖子。
4. 本试剂盒最适洗脱液体积为 50μl，洗脱液用量可根据客户实验具体情况灵活

调整。

5. 操作中可能需要 3M KAc (pH5.0)。

操作步骤



一、从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段

1. 用干净、锋利的手术刀, 将含有目的 DNA 片段的琼脂糖凝胶切下, 并放入 1.5 或 2.0 ml 离心管中。

请尽量切去不包含 DNA 片段的凝胶。一般情况下, 电泳的 DNA 上样量 $\geq 50\mu\text{l}$ (50µl 为最终洗脱体积)

2. 按 1: 3 的比例 (凝胶质量毫克数: 融胶液体积微升数) 加入 **Extraction Buffer**。

例如: 100mg 凝胶应加入 300µl Extraction Buffer。对于每人份试剂用量, 凝胶质量不能超过 400mg。

3. 于恒温水浴或金属浴中 50°C 温育, 直到凝胶融化。

一般温育时间为 10 分钟。温育过程中每隔 2-3 分钟混匀一次。如果温育后, 混合液体颜色变紫, 请加入 10µl 3M KAc (pH5.0), 使混合液颜色变回黄色。

二、从 PCR 反应液或酶切反应液中回收 DNA

1. 将 PCR 反应产物或其它酶促反应物移入 1.5ml 离心管中。
2. 按 PCR 反应产物体积的 3 倍加入 Extraction Buffer。混合均匀。

三、DNA 纯化

1. 将混合液全部转移到 Spin column 内，于 6, 000g 离心 1 分钟，并弃去接液管内液体。

如混合液体积大于 750 μ l 可先转移 750 μ l，其余的液体待离心弃液后，再转移。

2. 向 Spin column 内加 500 μ l Extraction Buffer，于 12, 000g 离心 30~60 秒，并弃去接液管内液体。
3. 向 Spin column 内加 750 μ l Wash Buffer，于 12, 000g 离心 30~60 秒，并弃去接液管内液体。

如果回收的 DNA 片段将用于盐浓度敏感的实验，请在加入 Wash Buffer 后静置 2~5 分钟，再离心。

4. 再次于 12, 000rpm 离心 1 分钟，然后将 Spin column 转移到无菌的 1.5ml 离心管中。

如不进行该步离心，则无法保证离心柱内残液被彻底清除。

5. 向 Spin column 内加 50 μ l Elution Buffer、水或 TE 溶液，并于室温静置 3 分钟。

可根据实验的实际需要决定 Elution Buffer 用量。但不要低于 30 μ l。

6. 于 12, 000g 离心 1 分钟，微量离心管内溶液中含有目的 DNA 片段。

回收的 DNA 可直接用于各类下游分子生物学实验，如果不立即使用，请保存于-20 $^{\circ}$ C。

常见问题及对策

1. 没有回收到 DNA 片段

如在洗脱后，发现洗脱液中没有 DNA 片段，请检查是否按瓶身标签，在洗涤液中加入了无水乙醇。

2. 提取率低

1) Extraction Buffer 为酸性缓冲液，如融胶后，其 pH 值升高（混合物颜色变紫）将影响提取得率。请加入 0.1 倍体积的 3M 乙酸钾（pH5.0）。使得混合物颜色重新变回黄色。

2) 长时间使用后没有更换的电泳缓冲液，其 pH 值较高，将影响 DNA 的吸附。请更换新的电泳缓冲液后，再进行电泳，然后切胶。

3) 在洗脱前，将洗脱液于 30~60℃温浴，可提高提取效率。

3. 吸光度测量结果问题

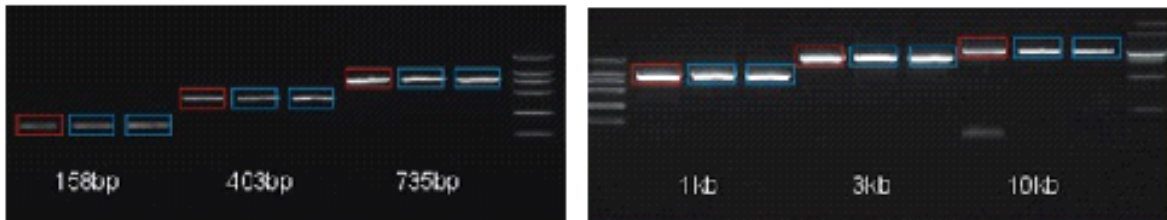
吸光度测量的是未知样品与调零标准之间的相对吸光度，所以请用与洗脱液体相同的液体，对测量样品进行稀释和调零。

4. 如何计算提取率

- 1) 由于回收前样品中，往往含有非目的 DNA 片段、引物、dNTP 等，所以不能用测回收前后吸光度的方法计算回收率。
- 2) 可将回收前后 DNA 片段一起电泳，使用凝胶成像系统拍照后，用配套的软件进行电泳条带灰度对比。
- 3) 注意，电泳条件及拍摄条件将对灰度对比结果造成很大影响，请仔细操作，以减小误差。

实验举例

实验 1：不同长度的 DNA 片段回收前和回收后，电泳图。10KB DNA 片段仍然回收效率很高。



实验 2：洗脱体积和 DNA 得率的线性关系图

