

胶回收及 PCR 产物纯化试剂盒

E.Z.N.A.[®] Gel & PCR Clean Up Kit

货号	D2000-00	D2000-01	D2000-02
反应次数	5 次	100 次	200 次
HiBind [®] DNA XS Columns	5 个	100 个	200 个
2 mL Collection Tubes	5 个	100 个	200 个
XP5 Buffer	5 mL	80 mL	160 mL
SPW Buffer	2 mL	2 x 20 mL	3 x 25 mL
Elution Buffer	5 mL	10 mL	20 mL
User Manual	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. 当贮存温度较低时，XP5 Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中，至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
3. 本试剂盒仅供科学研究使用。

★ 实验前准备

按照下表提示，使用【无水乙醇】对 SPW Buffer 进行稀释，稀释后室温保存。

货号	无水乙醇 加入量
D2000-00	8 mL
D2000-01	80 mL (每瓶)
D2000-02	100 mL (每瓶)

★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心速度可达 10,000xg 的离心机、涡旋仪、温度可达 55℃的孵育装置
- ✓ 无菌无酶的 1.5ml 离心管
- ✓ 无水乙醇
- ✓ (可选) 5M 醋酸钠 pH5.2、无菌水

★ 回收操作步骤 ——琼脂糖凝胶回收方案

1. 琼脂糖凝胶电泳分离 DNA 片段，任何类型或等级的琼脂糖都可以使用；强烈建议您使用新鲜的 TAE /TBE Buffer 作为电泳缓冲液。不要重复使用电泳缓冲液，因其 pH 的升高易导致产量降低；
2. 当所需 DNA 片段在琼脂糖凝胶上完全分离时，使用一把干净锋利的手术刀小心地切下所需 DNA 片段，尽量切除多余的胶体；
3. 将带有目的片段的凝胶块转移至 1.5mL 离心管，称重得出凝胶块的重量。按照 1g/mL 来计算需要添加的溶胶液 XP5 Buffer 体积；
例如：凝胶薄片的重量为 0.3g，则需要加入 0.3mL 的溶胶液 XP5 Buffer。
4. 往离心管中加入与胶体等体积的 XP5 Buffer；
5. 置于 50-55℃孵育 7min 或至凝胶完全融化，每 2-3 min 振荡或涡旋混合物；
重要提醒：在凝胶完全溶解之后，注意凝胶-XP5 Buffer 混合物的 pH 值。如果其 pH 值大于 8 的话，DNA 的产量将大大减少。观察混合物的颜色，如果是橙红色，则要加入 5 μ L 5 M 醋酸钠 (pH 为 5.2)，以调低其 pH 值。经过这一调节，该混合物的颜色将恢复为正常的黄色/浅黄色。
6. 把 HiBind[®] DNA XS Column 套在 2mL 收集管内；
7. 转移不超过 700 μ L DNA 溶胶液全部转移至 HiBind[®] DNA XS Column 中，室温下 10,000 x g 离心 1min，弃滤液，将柱子套回 2mL 收集管内；
8. 如果 DNA 溶胶液的体积超过 700 μ L，则重复步骤 7 至所有 DNA 溶胶液全部通过结合柱；
9. 弃滤液，将 HiBind[®] DNA XS Column 套回 2mL 收集管内。加 300 μ L XP5 Buffer 至结合柱中，室温下，最大速度 ($\geq 13,000$) 离心 1min，弃滤液；
10. 将 HiBind[®] DNA XS Column 套回 2mL 收集管内。加 700 μ L SPW Buffer (已加无水乙醇正确稀释) 至结合柱中。室温下 10,000xg 离心 1min，弃滤液；

可选：如下游实验对盐离子含量较为敏感，可重复步骤 10 进行第二遍 SPW Buffer 洗涤；

11. 将 HiBind® DNA XS Column 套回 2mL 收集管内，室温下 $\geq 13,000\times g$ 离心 2 min 以甩干结合柱基质残余的液体；
12. 将 HiBind® DNA XS Column 装在一个干净的 1.5mL 离心管上，加入 10~30 μL Elution Buffer 到结合柱基质上，室温放置 1min, $13,000\times g$ 离心 1min 以洗脱 DNA。

注意：第一次洗脱可以洗出 70-80%的结合 DNA。如有必要可进行二次洗脱。

- 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱（可增加产量，但会导致浓度降低）
- 将第一次洗脱出的 Elution Buffer 重新加回到柱子中进行二次洗脱（可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积）

★ 回收操作步骤 ——PCR 产物回收方案

1. 电泳检测分析 PCR 或酶切产物，如果不需要去除任何杂带或者所需去除的杂带大小 $< 100\text{bp}$ ，选用这一方案进行回收。
2. 转移产物至 1.5mL 离心管中，测定产物的体积，往离心管中加入等体积的 XP5 Buffer，涡旋混匀；
3. 按照“琼脂糖凝胶回收方案”的步骤 6-12 继续操作。

★ 产品信息卡



更多详情，请扫描左方二维码获取原文说明书
中文翻译仅供辅助阅读



中国总代理：广州飞扬生物工程有限公司

技术支持：020-32051125

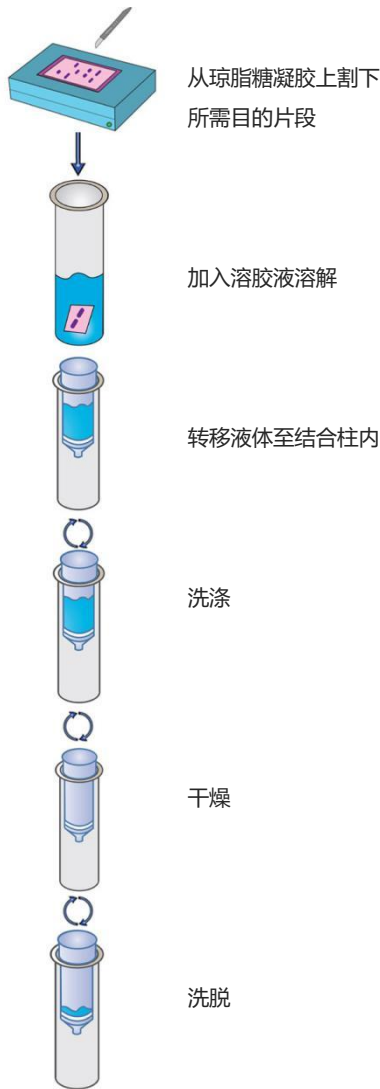
企业 QQ：800848200（人工客服在线）

中文网站：omegabiotek.com.cn

如需查询代理商名录，请关注“飞扬生物”微信号获取

★ 提取步骤示意图

琼脂糖凝胶操作流程



PCR 产物回收操作流程

