

Version: AE 6.0 (2024.02.22修订)

# SPARKeasy Gel/PCR Purification Kit

## 胶回收/PCR产物纯化试剂盒

目录号: AE0101

### 01/产品组分

序号	组分	50 次 AE0101-A	100 次 AE0101-B	200 次 AE0101-C
1	平衡液	6 mL	12 mL	24 mL
2	溶胶/结合液 DB	30 mL	60 mL	120 mL
3	漂洗液 WB	15 mL	15 mL×2	20 mL×3
		第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇 60 mL	60 mL×2	80 mL×3
4	洗脱缓冲液 EB	10 mL	15 mL	20 mL
5	吸附柱 EC	50 个	100 个	200 个
6	收集管 (2 mL)	50 个	100 个	200 个

### 02/保存条件

所有组分室温 (15-25°C) 保存。

### 03/产品概述

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 100 bp-20 kb 大小的 DNA 片段。

在高离序盐存在的情况下，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。

### 04/自备材料

无水乙醇

## 05/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°C。若需长期保存，可以用 TE 缓冲液洗脱（10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0），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°C）下进行。
- ◇平衡液在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至 37°C 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！

## 06/使用方案

### I. 琼脂糖凝胶纯化回收：

1. 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  $\mu$ L 的平衡液，12000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 1 min，倒掉收集管中废液，将吸附柱重新放回收集管中，备用。
2. 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 1.5 mL 离心管，称重。
  - ▲先称一个空 1.5 mL 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。
3. 加 1 倍体积溶胶/结合液 DB，放置于 56°C 水浴锅中溶胶，直至胶完全溶解（5-10 min），期间每 2-3 min 上下颠倒几次帮助加速溶解。
  - ▲若凝胶重为 100 mg，其体积可视为 100  $\mu$ L，则加入 100  $\mu$ L 溶胶/结合液 DB。
  - ▲增加溶胶/结合液 DB 用量不会影响其回收效率。例如凝胶重为 100-300 mg，可统一加 300  $\mu$ L 溶胶/结合液 DB。
4. 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 1 min，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 30-60 s，倒掉收集管中的废液。
  - ▲如果总体积超过 750  $\mu$ L，可将溶液分两次加入同一个吸附柱 EC 中。
  - ▲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。
5. 加入 600  $\mu$ L 漂洗液 WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 30 s，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：平末端连接实验或直接测序，建议漂洗液 WB 加入后静置 3-5 min 再离心。
6. 将吸附柱 EC 放回空收集管中，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 2 min。

7. 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  $\mu\text{L}$ 洗脱缓冲液EB，12,000 rpm (13,400 $\times$ g) 离心1 min。

▲洗脱缓冲液事先在65-70 $^{\circ}\text{C}$ 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1 min。

▲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  $\mu\text{L}$ ，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：

1. 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  $\mu\text{L}$  的平衡液，12000 rpm (13,400 $\times$ g) 离心 1 min，倒掉收集管中废液，将吸附柱重新放回收集管中，备用。

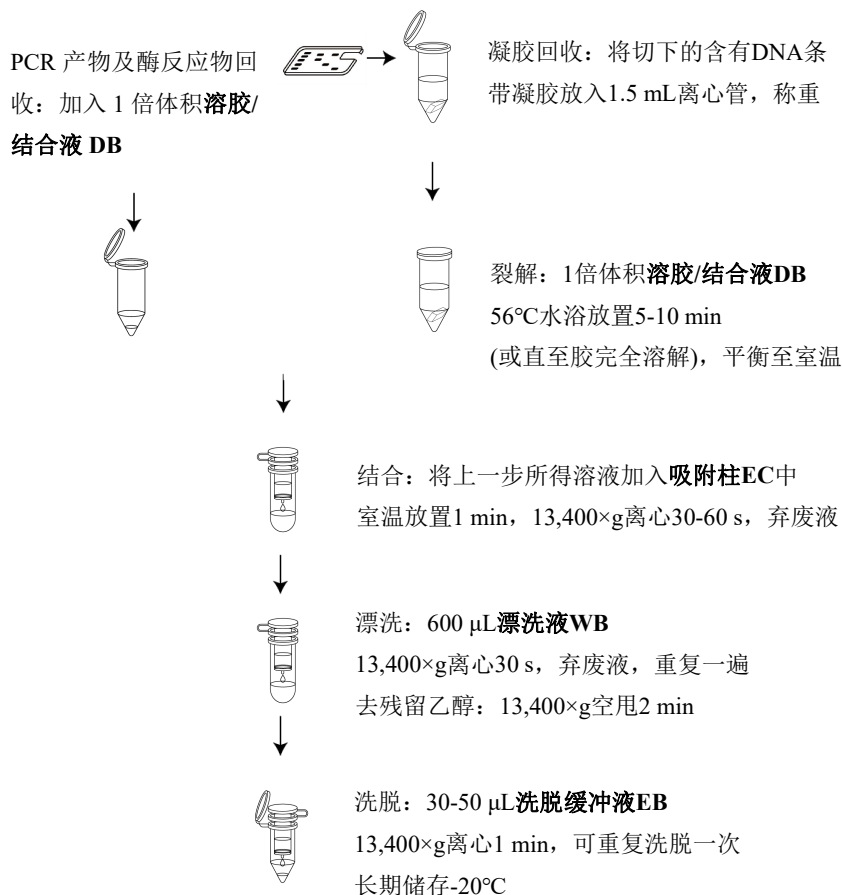
2. 一定体积 PCR 扩增体系或酶切后体系加入 1 倍体积溶胶/结合液 DB，充分混匀。

▲增加溶胶/结合液 DB 使用量不会影响其回收效率。例如 100-300  $\mu\text{L}$  体系，可统一加 300 $\mu\text{L}$  溶胶/结合液 DB。

3. 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 min，12,000 rpm (13,400 $\times$ g) 离心 30-60 s，倒掉收集管中的废液。

4. 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。

## 07/流程简图



## 08/相关产品

- AE0401 寡核苷酸纯化试剂盒
- AF0802 2×SparkHiFi Max Master Mix (with dye)
- AF0803 2×SparkHiFi Max Master Mix (without dye)
- AJ0101 Spark 2000 DNA Marker
- AJ0102 Spark 5000 DNA Marker
- AJ0201 Spark 6×DNA Loading Buffer (双染料)
- AJ0204 Spark 5×RNA Loading Buffer
- AJ0205 Agarose
- AJ0208 Spark GoldView
- AJ0209 Sparkgreen
- AJ0210 Sparkred
- AJ0211 Spark 6×DNA Loading Buffer (单染料)

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: [support@sparkjade.com](mailto:support@sparkjade.com)

