

Version: AE 5.0 (2024.02.22修订)

SPARKeasy PAGE DNA Extraction Kit

聚丙烯酰胺凝胶DNA回收试剂盒

(离心柱型)

目录号: AE0501

01/产品组分

序号	组分	50 次 AE0501
1	平衡液	6 mL
2	Binding Buffer	40 mL 第一次使用前加入 60 mL 异丙醇
3	漂洗液 WB	15 mL 第一次使用前加入 60 mL 无水乙醇
4	Diffusion Buffer	30 mL
5	洗脱缓冲液 EB	10 mL
6	吸附柱 EC	50 个
7	收集管 (2 mL)	50 个

02/保存条件

所有组分室温 (15-25°C) 保存。

03/产品概述

本试剂盒采用新型硅基质膜离心柱及特殊的缓冲液系统，可简洁高效回收聚丙烯酰胺凝胶中 20 bp-500 bp 的 DNA 片段，回收率可达 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、克隆、测序等后续分子生物学实验。

04/自备材料

异丙醇、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

- ◇ Binding Buffer 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。
- ◇ 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。
- ◇ 切胶时，紫外照射时间应尽量短，以免对 DNA 造成损伤。也可以选择使用可见光染料染色后在可见光下切胶，避免紫外对 DNA 的损伤。
- ◇ 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℃）下进行。
- ◇ 平衡液在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至 37℃使沉淀完全消失后使用。
- ◇ 第一次使用前请先在 Binding Buffer 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，加入后请立即标记已加入，避免多次加入！

06/使用方案

1. 柱平衡步骤：取硅胶膜吸附柱EC放入收集管中，向每个吸附柱中加入100 μL的平衡液，12000 rpm（13,400×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。
2. 切取含DNA片段的PAGE凝胶（100 mg左右），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）。
3. 向凝胶中加入1-2倍体积的Diffusion Buffer（如100 mg凝胶加入100-200 μL Diffusion Buffer），55℃温浴30 min-2 h，期间可涡旋震荡，充分混匀，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，100 bp左右的DNA片段温浴30 min就可以（时间长些也不影响回收效果）；如果回收500 bp-1000 bp的DNA片段，可以将温浴时间延长3-5 h。也可以37℃温浴12-16 h。
4. 12,000 rpm（13,400×g）离心5 min。小心取上清转入新的离心管，记录上清体积。
5. 加入9倍上清体积的Binding Buffer，混匀。

▲回收片段>100 bp时，加5倍上清体积的Binding Buffer即可。
6. 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×g）离心30-60 s，倒掉收集管中的废液。

▲吸附柱最大容积为750 μL，若溶液体积大于750 μL，可分批加入。
7. 加入600 μL漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400×g）离心30 s，弃掉废液。重复此步骤。

8. 将吸附柱EC放回空收集管中，12,500 rpm（14,500×g）离心2 min。
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 μL洗脱缓冲液EB，室温放置2 min，12,000 rpm（13,400×g）离心1 min。

▲如果需要较高浓度的核酸，可将得到的溶液重新加入吸附柱中，离心1min。

▲如果需要的核酸浓度较高，可适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于30 μL，体积过小会降低核酸洗脱效率，减少产量。

07/流程简图



08/相关产品

- AE0101 胶回收/PCR产物纯化试剂盒
- AE0401 寡核苷酸纯化试剂盒
- 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

