



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

http:// www.real-tims.com.cn

E-mail: real-times@163.com

PAGE 凝胶 DNA 回收试剂盒（吸附柱法）（目录号：RTP3104）

● 试剂盒内容及保存：

试剂盒组成	RTP3104（50次）	贮存
提取液 A	10 ml	RT
结合液 B	50 ml	RT
助沉剂 C	10 ml	RT
漂洗液 PW（浓缩液）	25 ml	RT
洗脱缓冲液 EB	15 ml	RT
3 M NaAc pH5.2	500 μ l	RT
吸附柱 CA1	50 个	RT
套管	50 个	RT
塑料研磨杵	5 个/包	RT
说明书	1 份	

● 运输、储存条件和效期：

常温运输，常温保存，有效期为一年。

● 产品简介及使用说明：

本试剂盒适用于从 PAGE 胶中回收 50-500 bp 的双链 DNA 片段，回收效率可达 30-80%。该试剂盒采用特殊的吸附膜，能够有选择性地吸附核酸分子，去除其他杂质，得到高质量的 DNA 回收产物。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。

注：该试剂盒也能回收单链 DNA 片段，但回收效率偏低。

本试剂盒具有以下特点：

1. 适用范围广，回收效率高，对于 50-500 bp 之间的 DNA 片段，回收效率在 30-80%。
2. 操作简单快速
3. 无需酚氯仿抽提，无需乙醇沉淀。

按照每次使用 200 μ l 提取液 A 计算，试剂盒可以使用 50 次。

● 使用方法：

1. 电泳：

PAGE 电泳后染色观察 DNA 并确定需要回收的 DNA 条带的位置，确保目的 DNA 片段与其他片段分开。

2. 切胶：

用干净的刀片小心切取含 DNA 片段的 PAGE 凝胶到一个干净的 1.5 ml 离心管中。

注：尽可能多地把多余的胶切除，否则多余的凝胶会降低 DNA 的回收效率。

3. DNA 提取：

3.1 根据胶块重量，每 100 mg 胶块加 200 μ l 比例加入提取液 A（如胶块不足 100 mg，用灭菌水补足 100 mg），用塑料研磨杵充分将凝胶块捣碎。

注：提取液 A 在低温时会有沉淀形成，37 $^{\circ}$ C 温浴后彻底溶化后使用；

胶的重量控制在 0.3 克以下为宜，否则会导致 DNA 片段扩散提取不完全。

3.2 55 $^{\circ}$ C 水浴 30 分钟，间隙混匀，促进凝胶中的 DNA 扩散到溶液中。

3.3 13000 rpm 离心 5 分钟，小心将上清液(含 DNA 片段)转移到一个新的 1.5 ml 离心管中。

4. 上清液中依次加入 3 倍上清体积结合液 B 和 1 倍上清体积的助沉剂 C，混匀。

注：如果此时溶液变为粉红色，请加入少量 3M NaAc pH5.2（一般说来，10 μ l 足矣），使溶胶液变为黄色再

上柱离心。

5. 将上一步所得溶液加入到吸附柱 CA1 中（吸附柱放入收集管中），常温放置 2 分钟，13,000 rpm 离心 60 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

注：吸附柱 CA1 的有效容积为 750 μ l，如溶液体积大于 750 μ l，分次上柱，保证全部溶液都加到吸附柱中。

6. 向吸附柱 CA1 中加入 700 μ l 漂洗液 PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），13,000 rpm 离心 60 秒，倒掉废液，将吸附柱重新放入收集管中。

7. 向吸附柱 CA1 中加入 500 μ l 漂洗液 PW，13,000 rpm 离心 30-60 秒，倒掉废液。

8. 将离心吸附柱 CA1 放回收集管中，13,000 rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液。

注：此步必不可少！如果漂洗液有残留会影响回收效率和 DNA 质量，进而影响下游实验；离心后将吸附柱盖子打开，常温放置 2 分钟，这样将有助于彻底挥发残余乙醇。

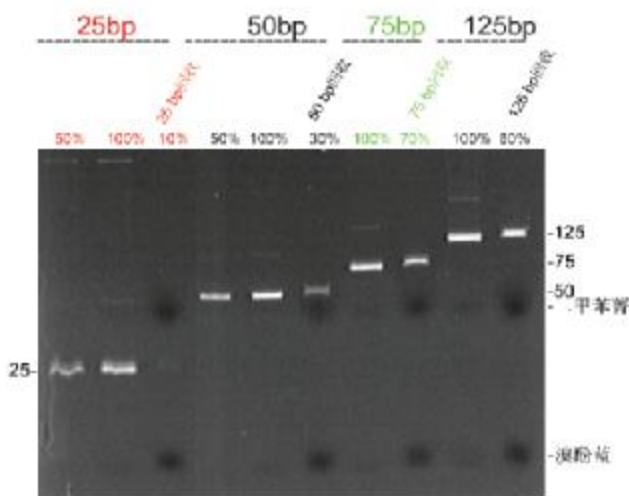
9. 将吸附柱放到一个干净 1.5 ml 离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加适量 65 $^{\circ}$ C 预热的洗脱缓冲液 EB（一般不要少于 30 μ l），常温放置 2 分钟。13,000 rpm 离心 1 分钟收集 DNA 溶液。

注：CA1 柱的洗脱体积不应少于 30 μ l，体积过小将会降低回收效率；洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。由于 PAGE 胶中片段较小，不建议用水进行洗脱。

10. DNA 产物-20 $^{\circ}$ C 保存。

● 实验示例：

片段范围	回收效率
<25 bp	<10%
25-50 bp	<30%
50-100 bp	~70%
大于 100 bp	~80%



PAGE凝胶双链DNA回收

20% TBE-PAGE Gel

电泳条件：1 \times TBE 200V 27-15mA 60 min

染色：RealSafe Red后染

结果：25 bp 回收效率低于10%；50 bp回收效率30%

75 bp回收效率70%；125 bp回收效率80%