



胶回收试剂盒简明说明书（BW-DC3511）

Ver: 2504

产品简介

本试剂盒用于从琼脂糖凝胶中快速、可靠地回收 DNA，从 PCR、RFLP、磷酸化、标记、连接、杂交及其他酶促反应中纯化 DNA 片段。100 bp 至 20 kb 的 DNA 片段可通过 Mini Column 可纯化得到，回收率在 50~90%。

产品构成

Catalog#	-00	-01	-02	-03	04
Preps	10	50	100	250	500
Mini Columns	10	50	100	250	500
2 mL Collection Tubes	10	50	100	250	500
1.5 mL Microfuge Tubes	10	50	100	250	500
Buffer GBL	6 mL	30 mL	60 mL	150 mL	300 mL
Buffer KB	6 mL	30 mL	60 mL	150 mL	300 mL
Buffer GC-A	5 mL	25 mL	50 mL	120 mL	240mL
Buffer GC-B	5 mL	25 mL	50 mL	120 mL	240mL
DNA Wash Buffer*	6 mL	30 mL	2x30 mL	3x60 mL	2x120 mL
Buffer C1	1 mL	1 mL	1.5 mL	3 mL	6 mL
Elution Buffer	5 mL	10 mL	15 mL	30 mL	60mL
User Manual	1	1	1	1	1

要点

- DNA Wash Buffer: 使用前将 14 mL（BW-DC3511-00）或 70 mL（BW-DC3511-01）或 70 mL（BW-DC3511-02）或 140 mL（BW-DC3511-03）96-100%乙醇加入至每个 DNA Wash Buffer 瓶内, 280 mL（BW-DC3511-04）96-100%乙醇加入至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。
- 100 mg 的凝胶相当于 100 μL 体积。
- Buffer GC-A/B: 低温易产生沉淀，使用前请于 37℃水浴加热至沉淀完全溶解。
- Buffer GC-A/B 含有核酸结合 pH 指示剂，pH<7.5 时，Buffer GC-A/B 显示黄色，利于 DNA 的结合；pH>7.5 时，Buffer GC-A/B 显示紫色，在此环境下，不利于 DNA 结合，每个反应需额外加入 10ul **Buffer C1**，此时由紫色变为黄色，可继续进行后续实验。
- 65℃预热 Elution Buffer 或 ddH₂O。
- 所有操作步骤（包括离心）均在室温下进行。

产品贮存及稳定性

本试剂盒自生产之日起可保存 12 个月。所有试剂及用品可保存于室温（15-25℃）。

实验前需准备的材料

- 小型台式离心机和 1.5 mL 离心管
- 55~65℃水浴锅
- 负压装置

- 96~100%乙醇
- 异丙醇（对于 200 bp 以下或 4000bp 片段的回收）

操作步骤（离心法）

1. 柱平衡步骤: 向 **Mini Column**（自带 **2 mL Collection Tube**）加入 **500 μL Buffer GBL**，12000 rpm 离心 1 min，弃滤液，将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube**（请使用当天处理过的柱子）。
2. **琼脂糖凝胶产物纯化**: 从凝胶上割下带有目的片段的凝胶到一个 1.5 mL 或 2.0 mL 离心管（称量估算凝胶的体积，确保加入不少于 1 倍体积的 Buffer GC-A），加入 **1 倍体积**的 **Buffer GC-A**，置于 55~60℃水浴 8~10 min，期间颠倒混匀几次，直至凝胶完全融化，冷却离心管至室温。

注: 100mg 凝胶相当于 100ul;

纯化片段大于 4000bp 或小于 200bp 需加入 1 体积的异丙醇;

对于大于 2%的凝胶，加入 2 体积的 GC-A Buffer;

每个 **Mini Column** 最大承载 400mg 凝胶，对于大于 400mg 凝胶的样本需增加一个 **Mini Column** 柱子;

PCR 产物纯化: 加入 **2 倍体积**的 **Buffer GC-B**（如 100 μL 的 PCR 反应液，加入 200 μL Buffer GC-B），混合均匀，瞬时离心，将溶液收集到管底。

注: 纯化 200 bp 以下的 PCR 产物，加入 5 倍体积的 Buffer GC-B 到 1 倍体积的 PCR 反应液。100 mg 的凝胶相当于 100 μL。

200 bp 以下或 4000bp 以上片段的纯化，请加入 1 倍体积的异丙醇。

3. 转移上述混合液（每次不超过 **700 μL**）至一个 **Mini Column**,

12,000 rpm 离心 1 min，弃滤液，将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube**。重复此步骤至所有样品通过。

4. 可选：**琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 **500 µL Buffer KB**，12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube**。

5. 加入 **700 µL DNA Wash Buffer**，12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube**。

6. 重复步骤 **5**。

注：确保使用前按要求加入乙醇至 **DNA Wash Buffer** 瓶内。

7. 可选：**琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 **700 µL DNA Wash Buffer**，12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube**。

注：如果纯化的 **DNA** 产物用于对盐敏感的应用(如测序、平末端连接)，建议采用此步骤。

8. 打开 **Mini Column** 盖子，12,000 rpm 离心 2 min，去除残留的乙醇。

注：开盖离心更有利于乙醇的去除。

9. 转移 **Mini Column** 至一个 **1.5 mL Microfuge Tube**，在膜中央加入 **30~100 µL Elution Buffer**（**65℃ 预热**）或 ddH₂O (pH 在 7.0~8.5)，静置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min 洗脱 **DNA**。

可选：将洗脱下来的液体重新上柱，二次洗脱。

注：将 **Elution Buffer** 或 ddH₂O 置于 **65℃ 预热**，或加入洗脱液后将 **Mini Column** 置于 **65℃** 静置 5 min 再进行洗脱，将会显著提高 **DNA** 回收率。

注：对于 8 kb 以上的片段，加入洗脱液后将 **Mini Column** 置于 **65℃** 静置 5 min。

注：第一次洗脱通常得到 60~70%左右的 **DNA**。二次洗脱有利于回收剩

下 20%的 **DNA**。

操作步骤（负压/离心法）

1. 根据制造商指南安装负压设备，将 **Mini Column** 连接到负压装置上。

2. 柱平衡步骤：向 **Mini Column** 加入 500 µL **Buffer GBL**，打开负压装置 1 min。

3. 按照离心法中步骤 **2** 操作。瞬时离心以收集所有液体至管底。

4. 小心转移混合液至 **Mini Column** 中，打开负压装置，允许液体通过柱子。

5. 可选：**琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 **500 µL Buffer KB**，打开负压装置 1 min。

6. 加入 **700 µL DNA Wash Buffer**，打开负压装置 1 min。

7. 重复步骤 **6**。

8. 可选：**琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 **700 µL DNA Wash Buffer**，打开负压装置 1 min。

注：如果纯化的 **DNA** 产物用于对盐敏感的应用(如测序、平末端连接)，建议采用此步骤。

9. 打开负压装置，干燥空柱子 5 min。

10. 将 **Mini Column** 转移至一个 **1.5 mL Microfuge Tube**，在膜中央加入 **30~100 µL Elution Buffer** 或 ddH₂O，静置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min 洗脱 **DNA**。

注：将 **Elution Buffer** 或 ddH₂O 置于 **65℃ 预热**，或加入洗脱液后将 **Mini Column** 置于 **65℃** 静置 5 min 再进行洗脱，将会显著提高 **DNA** 回收率。

注意：第一次洗脱通常得到 60~70%左右的 **DNA**。二次洗脱有利于回收剩下 20%的 **DNA**。

常见问题解答

问题	可能原因	建议
低得率	Buffer GC-A/B 加入量不够	根据要求加入一定量的 Buffer GC-A/B。
	琼脂糖凝胶没有彻底融化	确保水浴温度在 55~60℃，若有必要增大 Buffer GC-A 的量。
	电泳缓冲液重复利用导致 pH 偏高	使用新鲜的电泳缓冲液。
	片段小于 200 bp	按要求加入异丙醇。
	片段大于 10 kb	加入洗脱液后，将柱子于 65℃ 预热 15 min 再洗脱。
没有收到 DNA	忘记在 DNA Wash Buffer 瓶内加入乙醇	使用前按要求加入乙醇至 DNA Wash Buffer 瓶内。
点样时 DNA 飘出点样孔	漂洗后乙醇没有完全去除干净	DNA Wash Buffer 漂洗后，开盖空离柱子，离心 1~3 min，重复一次。
柱子堵塞	琼脂糖凝胶没有完全融化	上柱前确保凝胶于 55~60℃ 融化。

倍州倍沃医学科技有限公司
BIOMIGA（中国）

www.beiwobiomedical.com
400-115-2855
sales@beiwobiomedical.com