

Gel/PCR Extraction Kit

琼脂糖凝胶 DNA/PCR 产物回收试剂盒目录号: **DNE58****试剂盒组成**

Component	DNE58-01 (50 preps)	DNE58-02 (100 preps)
Buffer BL	10 ml	20 ml
Buffer GL	50 ml	100 ml
Buffer WB2 (concentrate)	13 ml	25 ml
Buffer EB	10 ml	10 ml
Spin Columns AC with Collection Tubes	50	100

保存方法

室温 (15-30°C) 保存。

产品介绍

本试剂盒采用独特的缓冲液系统和高吸附性硅基质材料,适用于从 TAE / TBE 琼脂糖凝胶或 PCR/酶切产物中回收 DNA 片段,同时除去蛋白质、其它有机化合物、无机盐离子等杂质。使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

注意事项

- 1) 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。
- 2) 回收的 DNA 片段一般在 100 bp 到 40 kb 之间,过长、过短片段的回收效率会迅速降低。通常情况下, 1-20 μg , 100 bp-5 kb 的 DNA 片段,回收效率可达 85%以上。
- 3) 切胶回收时,紫外照射时间应尽量短,以免对 DNA 造成损伤。
- 4) 第一次使用前请先在 Buffer WB2 瓶加入指定量无水乙醇,充分混匀,并打钩标记,防止重复加入!
- 5) Buffer EB 中不含有螯合剂 EDTA 成分,不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱,但应该确保 pH 大于 7.5, pH 过低影响洗脱效率。
- 6) 若环境温度低时 Buffer GL 有结晶析出,可水浴加热重新溶解,摇匀后使用。

标准抽提步骤 (以下所有离心步骤均在室温完成)

1. **平衡吸附柱:** 向吸附柱 Spin Columns AC 中(**吸附柱放入收集管中**)加入 **200 μ l Buffer BL**, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 1 min, 弃废液, 将吸附柱重新放回收集管中。(请**使用当天处理过的柱子**)

注意: Buffer BL 能够提高长时间放置的吸附柱的均一性和稳定性。

2. **从琼脂糖凝胶中回收 DNA**

a. 将单一的目的 DNA 条带从琼脂糖凝胶中切下 (尽量切除多余部分), 放入干净的离心管中称重 (提前记录空离心管重量)。

b. 向胶块中加入 **3 倍体积的 Buffer GL** (举例: 凝胶重 100 mg, 其体积可视为 100 μ l, 则加入 300 μ l Buffer GL, 以此类推), 56°C 水浴放置 10 min, 其间每隔 2-3 min 涡旋混匀一次, 直至胶块充分溶解 (溶解后溶液应为黄色)。待融化的凝胶溶液降至室温后 (高温时吸附柱结合 DNA 能力弱), 按**操作步骤 3** 往下做。

注意: 1) 使用前先检查 Buffer GL 是否有结晶析出, 如果有结晶可在 56°C 水浴加热重新溶解后使用。2) 如果凝胶浓度 > 2%, 应加入 6 倍体积 Buffer GL。3) 可选, 一般不需要: 当回收片段 < 300 bp 时, 每 100 mg 最初凝胶重量加入 150 μ l 异丙醇, 以提高回收效率。

从 PCR 产物或酶切反应液中回收 DNA

a. 估计 PCR 反应液或酶切反应液的体积, 加入 **5 倍体积的 Buffer GL**, 充分混匀。往下**接操作步骤 3**。

3. 将上一步所得溶液 (**冷却至室温**) 加入到吸附柱 (Spin Columns AC) 中, 室温放置 1 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液。

注意: 吸附柱容积为 750 μ l, 若样品体积超过 750 μ l 可分两次加入。

4. 向吸附柱 AC 中加入 **600 μ l Buffer WB2** (**请先检查是否已加入无水乙醇!**), 12,000 rpm 离心 30 s, 弃废液。

5. 重复操作步骤 4。

6. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 弃收集管。

注意: 漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应 (酶切、PCR 等) 实验。

7. 将吸附柱 AC 放到一个干净的离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 **30-50 μ l Buffer EB** (EB 提前在 56°C 水浴中预热可增加回收效率), 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 1 min 收集 DNA 溶液。

注意: 1) Buffer EB 不应少于 30 μ l, 体积过小影响回收效率。2) 为了提高 DNA 回收量, 可将离心得到的 DNA 溶液重新加入到吸附柱中, 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 1 min。
