



Gel/PCR Extraction Kit

DP101

产品概述

Product Overview

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。

产品组成

Product Composition

组 分	DP101
Buffer BL	20 mL
Buffer GL	100 mL
Buffer WB (concentrate)	25 mL
Buffer EB	10 mL
Spin Columns AC with Collection Tubes	100 pieces

注意事项

Precautions

- 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，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 WB 瓶中加入指定量的无水乙醇，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。

操作流程

Operation Process

■ 标准抽提步骤

使用前请确认 Buffer WB (concentrate) 中已加入无水乙醇，加入体积参照瓶上的标签。（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 μL Buffer BL, 12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 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: Buffer BL 能够提高长时间放置的吸附柱的均一性和稳定性。

- 2) 不同产物中回收 DNA

- (1) **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 μL , 则加入 300 μL 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)。待融化的胶溶液降至室温后 (高温时吸附柱结合 DNA 能力弱), 接操作步骤 3 往下做。

注: 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) 当回收片段 < 300 bp 时, 每 100 mg 最初凝胶重量加入 150 μL 异丙醇, 以提高回收效率。

- (2) **从 PCR 产物或酶切反应液中回收 DNA**

- c. 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 AC (Spin Columns Ac) 中, 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液。注意: 吸附柱容积为 750 μL , 若样品体积超过 750 μL 可分两次加入。
- 4) 向吸附柱 AC 中加入 600 μL Buffer WB (请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃废液。

注: 加入 Buffer WB 后静置 1-2 min 有助于彻底清洗柱膜上残留的高盐, 提高 260/230 比值。

- 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: 漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应 (酶切、PCR 等) 实验。空离后可将吸附柱打开盖室温挥发 3-5 min。

- 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 μL Buffer EB (Buffer 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 2 min 收集 DNA 溶液。

注: 1) Buffer EB 不应少于 30 μL , 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。

保存条件

Storage Conditions

该试剂盒置于室温 (15 ~ 30°C) 干燥条件下保存。