



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

Component	DP101 100 rxns
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. 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 μ g，100 bp ~ 5 kb 的 DNA 片段，回收效率可达 85% 以上。
2. Buffer EB 中不含有螯合剂 EDTA 成分，不影响下游酶切、连接等反应。也可使用 ddH₂O 洗脱，但应该确保 pH>7.5，pH 过低会降低洗脱效率。
3. 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。
4. 环境温度较低时 Buffer GL 可能有结晶析出，需水浴加热重新溶解并摇匀后使用。
5. 切胶回收时，应尽量减少紫外照射时间，以免对 DNA 造成损伤。
6. 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。

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 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：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（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，其中每隔 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 μ L 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：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 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（吸附柱避免沾到管壁）。

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，向吸附膜的中部悬空滴加 30-50 μ L 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 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。

保存条件

Storage Conditions

该试剂盒置于室温（15 ~ 30°C）干燥条件下保存。