



## Gel Extraction Kit 凝胶 DNA 回收试剂盒

### 产品简介

Gel Extraction kit适合于从各种浓度各种类型的琼脂糖凝胶中回收100bp-20Kb的DNA片段，回收效率高达85%。纯化过程不需要用到任何危险的有机物抽提或耗时的乙醇，异丙醇沉淀。纯化产物可直接用于做连接、PCR、测序、限制性酶切，或者各种各样的标记反应。该试剂盒也适合于从酶切产物，PCR产物中高效回收DNA。

### 试剂盒组成

产品编号	C1101	C1105	C1106	C3107
次数	5	50	100	200
纯化柱子	5	50	100	200
收集管	5	50	100	200
Buffer NJ	2ml	30ml	60ml	110ml
DNA Wash Buffer	2ml	13ml	26ml	26ml*2
Elution Buffer	-	8ml	20ml	30ml
说明书	1	1	1	1

Elution Buffer: 10mM Tris pH 8.0

### 储存和稳定性

常温保存,自购买日起24个月内有效。

### 产品特点

- 快速: 整个操作过程快速方便, 几十分钟即可完成回收工作。
- 多样: 可以回收单链、双链DNA 片段以及环状质粒DNA。
- 高效: 独特的离心柱和精心配制的缓冲液, 保证最大量回收到高纯度的目的DNA。

### 浓缩的DNA Wash Buffer需用无水乙醇按如下稀释:

- C1101加入8ml, C1105加入52ml;C1106与C1107每瓶加入104ml。

### 注意事项

- 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。
- 切胶时, 紫外照射时间应尽量短, 以免对DNA 造成损伤。
- 溶胶后如变红, 说明pH大于7.5, 会影响回收率, 可向含有DNA 的胶溶液中加10-30  $\mu$ l 3 M 醋酸钠 (pH5.2) 将pH 值调到5-7 之间。
- 如果样品量少, 请选择MiniElut型, 每个柱子最大结合力为5 $\mu$ g DNA。

### 操作步骤

1. 建议您使用新鲜的TAE或者TBE缓冲液作为电泳缓冲液。不要重复使用电泳缓冲液, 因为会因其pH的升高而影响实验。
2. 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, 称取重量。
3. 加入3倍体积的Buffer NJ: 如凝胶薄片的重量为0.1g, 则其体积为0.1 ml, 加入300 $\mu$ l的Buffer NJ, 于55-65 $^{\circ}$ C水浴中至凝胶完全融化。  
重要提醒: 在凝胶完全溶解之后, 观察混和物的颜色, 如果是粉红色, 则要加入5 $\mu$ l 浓度为3 M, pH为5.2的醋酸钠, 以调低其pH值。经过这一调节, 该混合物的颜色将恢复为正常的浅黄色。
4. 可选步骤: 对小于100bp的片段, 融化后加入与胶等体积的异丙醇 (如胶重0.1g, 加入0.1ml异丙醇), 混匀。
5. 将上一步所得溶液加入到GBC吸附柱上 (注意: 吸附柱容积为800 $\mu$ l, 若样品体积大于800 $\mu$ l 可分批离心后加入)。室温下放置2min后, 10,000xg离心60秒。弃收集管中的滤液, 将柱子套回2ml收集管内收集管。
6. 弃收集管中的滤液, 将柱子套回2ml收集管内收集管。加入600 $\mu$ l DNA Wash Buffer至柱子中。室温下10,000xg离心30-60秒。

注意: 浓缩的DNA Wash Buffer在使用之前必须按标签的提示用乙醇稀释。如果DNA洗涤缓冲液在使用之前是置于冰箱中的, 须将其拿出置于室温下。

7. 重复用600 $\mu$ l DNA Wash Buffer洗涤柱子。室温下10,000x g离心30-60秒。
8. 弃收集管中的滤液, 将柱子套回2ml收集管内收集管。室温下,13,000 x g离心2 min以甩干柱子基质残余的液体。
9. 把柱子装在一个干净的1.5ml离心管上, 加入15~25 $\mu$ l (具体取决于预期的终产物浓度) Elution Buffer到柱基质上, 室温放置1min, 12,000x g离心1min以洗脱DNA。第一次洗脱可以洗出80-90%的结合DNA。如果再洗脱一次的话, 可以把残余的DNA洗脱出来, 不过那样的浓度就会较低。

### DNA 浓度及纯度检测

回收得到的DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在OD260处有显著吸收峰, OD260 值为1 相当于大约50 $\mu$ g/ml双链DNA、40 $\mu$ g/ml单链DNA。OD260/OD280 比值应为1.7~1.9, 如果洗脱时不使用洗脱缓冲液, 而使用去离子水, 比值会偏低, 因为pH 值和离子存在会影响光吸收值, 但并不表示纯度低。

### 可能出现的问题与对策

问 题	可 能 原 因	解 决 建 议
低 DNA 产量	加入的 Buffer NJ 太少	错误判断割下的琼脂糖凝胶的体积, 按照使用说明加入足够量的 Buffer NJ.
	琼脂糖凝胶未完全溶解	置样品 55°C 水浴中使凝胶完全溶解.
	电泳缓冲液不新鲜	用过的缓冲液可能已失去了其缓冲能力而 pH 值上升, 而使得溶胶液 pH 上升, 从而影响 DNA 结合到 GBC 结合柱上. 如遇溶胶液变红, 必须用 3M NaAc 调 pH 至 7.0 以下。
柱子堵塞	琼脂糖凝胶没有完全溶解	置样品 55°C 水浴中使凝胶完全溶解..对于大块的凝胶薄片(>0.3ml), 我们建议把胶切成更碎的小块以帮助溶解.
无 DNA	DNA Wash Buffer 没有用无水乙醇稀释	按照使用说明对 DNA Wash Buffer 用无水乙醇进行稀释.
	加入的 NJ 缓冲液体积不适合	加入 4.5~5 倍体积的 NJ 缓冲液. 对于 <100bp 的 DNA 片断, 加入 6 倍体积的 NJ 缓冲液.
OD 值与琼脂糖凝胶中的 DNA 产量不相符	从柱子上洗脱下来的痕量杂质增加了 A <sub>260</sub> 的值	确保是按照步骤 6 和 7 的方法来洗涤柱子. 另一方面, 还取决于琼脂糖/EB 电泳的量.
点样时样品漂出孔外	在洗涤完之后没有把柱上的乙醇完全除去	按步骤 8 的说明离心柱子以干燥硅质基膜, 然后再进行下面的洗脱步骤.

### 可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G3422	DAB 染色液	100ml
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2
G3424	RIPA 裂解液	100ml
P0018	ECL 发光液	100ml
G3418	TMB Solution For Blotting	100ml
G4308	TMB solution For Elisa	100ml
G3005	30%丙烯酰胺 (29:1)	500ml
G3403	40%丙烯酰胺 (37.5:1)	500ml
G0528	4%多聚甲醛	500ml
G3422	BCA 蛋白浓度测定试剂盒	500T
G3155	Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	1000T
G4256	10X 丽春红染色液	10ml