

Gel Extraction Kit

琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒

目录号：DNE52

试剂盒组成

试剂盒组成	保存	DNE52-01 (50 次)	DNE52-02 (100 次)	DNE52-03 (200 次)
Buffer BL (平衡液)	室温	5 ml	10 ml	20 ml
Buffer GS	室温	50 ml	100 ml	100 ml×2
Buffer WB	室温	13 ml	25 ml	25 ml×2
Buffer EB	室温	10 ml	10 ml	20 ml
Onestep-Lysis [®] Columns EC	室温	50 个	100 个	200 个
Collection Tubes	室温	50 个	100 个	200 个
Manual			1 份	

保存方法

本试剂盒室温储存 12 个月效果稳定。



本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品介绍

本试剂盒采用异硫氰酸胍法溶胶，利用离心吸附柱内的硅基质膜在高盐、低 PH 值状态下选择性地吸附 DNA，再通过漂洗液将杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净 DNA 从硅基质膜上洗脱。使用本试剂盒纯化得到的 DNA 可酶切、测序、连接、克隆等多种操作。

注意事项

- 1) 平衡液 BL 的加入能够改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性，消除高温/潮湿或其他不良因素对吸附柱造成的影响。使用前请检查平衡液 BL 是否出现浑浊，如有浑浊现象，可在 37℃ 水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。
- 2) 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。
- 3) 回收纯化的 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。
- 4) 回收 DNA 的量和起始 DNA 的量、洗脱体积、DNA 片段大小有关。一般而言，1-20 μg ，100 bp-5 kb 的 DNA 片段，回收效率可达 85% 以上。
- 5) 切胶回收时，紫外照射时间应尽量短，以免对 DNA 造成损伤。
- 6) 所有离心步骤均在室温完成，使用普通台式离心机即可。

标准抽提步骤

- 第一次使用前请先在 Buffer WB 瓶加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框内打钩标记，以免重复加入！
1. 柱平衡步骤：向吸附柱 Onestep-Lysis[®] Columns EC 中（**吸附柱放入收集管中**）加入 100 μl 平衡液 BL，12,000 rpm（ $\sim 13,400\times g$ ）离心 1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。（**请使用当天处理过的柱子**）
 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重（提前记录空离心管重量）。
 3. 向胶块中加入 3 倍体积 Buffer GS（**如果凝胶重 100 mg，则加入 300 μl Buffer GS，以此类推**），56℃ 水浴放置 10 min，其间不断温和地上下翻转离心管，以确保胶块充分溶解。如果还有未溶解的胶块，可再补加一些溶胶液或延长水浴时间。
 - 如果凝胶浓度 > 2%，应加入 6 倍体积溶胶液。
 - 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 μl 异丙醇，以提高回收效率。
-

-
4. 将上一步所得溶液加入到 Onestep-Lysis® Columns EC 中（吸附柱 EC 放入收集管中），室温放置 1 min，12,000 rpm（~13,400×g）离心 1 min，倒掉收集管中的废液，吸附柱 EC 放回收集管中。
 - 吸附柱容积为 750 μl，若样品体积超过 750 μl 可分批加入。
 5. 向吸附柱 EC 中加入 600 μl 漂洗液 Buffer WB（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），12,000 rpm（~13,400×g）离心 1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。
 6. 重复操作步骤 5。
 7. 将吸附柱 EC 放回空收集管中，12,000 rpm（~13,400×g）离心 2 min，尽量除去漂洗液。
 - 漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。
 8. 将吸附柱 EC 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，室温放置 2 min，12,000 rpm（~13,400×g）离心 1 min 收集 DNA 溶液。
 - Buffer EB 不应少于 30 μl，体积过小影响回收效率。
 - 为了提高 DNA 回收量，可将离心得到的 DNA 溶液重新滴加到吸附柱中，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min。
 - Buffer EB 在 56℃ 水浴中预热可增加回收效率。
-
