

For research use only

Version Number: 1.1

注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)**Gel Extraction Kit**

For DNA fragment (30 bp - 10 kb) extraction from agarose gel

试剂盒组成	DE-02011
	50 T
Buffer GE *	50 mL
Buffer WB1	15 mL
Buffer EB	10 mL
DNA-Only Column	50 套
说明书	1 份

*: Buffer GE 中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

产品简介

该试剂盒采用本公司研制的离心柱和配方，可以从琼脂糖凝胶中高效率的回收高纯度 DNA 片段。试剂盒回收 DNA 片段范围广，一般条件下可以回收 30 bp-10 kb 的 DNA 片段。最小可以使用 30 μ L 洗脱液，提高回收 DNA 浓度。

试剂盒操作便捷，步骤少，只需数次离心即可同时处理多个样品，15 分钟即可获得高纯回收 DNA 片段。

储存条件

本试剂盒在常温(15-25 $^{\circ}$ C)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2-8 $^{\circ}$ C。

注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37 $^{\circ}$ C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

- ❖ 琼脂糖凝胶电泳分离 DNA 时，使用新鲜的 TAE/TBE Buffer 和新配制的凝胶。
- ❖ 琼脂糖浓度过高会影响胶回收的效率和质量，应尽可能使用 2%及其以下的琼脂糖凝胶进行电泳。
- ❖ 切胶时，紫外照射时间应尽量短，以免对 DNA 造成损伤。应尽量切除多余的胶块，单个离心柱能最多能从 400 mg 凝胶中回收得到 70-80%的目的片段，若切下的胶块 >400 mg，请使用多个离心柱进行回收。
- ❖ 回收率与初始 DNA 量和洗脱体积有关，初始量越少、洗脱体积越少，回收率越低。建议，DNA 片段的初始量 \geq 400 ng。
- ❖ 试剂盒使用前，请务必检查 Buffer WB1 是否按说明添加了无水乙醇。Buffer WB1 在使用前分别添加 60 mL 无水乙醇(DE-02011)。
- ❖ 使用前，仔细检查 Buffer GE 中是否有沉淀析出，若有沉淀析出，请将其置于 37 $^{\circ}$ C 溶解，混匀后再使用。
- ❖ 洗脱体积：Buffer EB 不应少于 30 μ L，否则会影响 DNA 回收效率。
- ❖ 所有离心步骤均为使用台式离心机常温(15-25 $^{\circ}$ C)离心。
- ❖ 所有实验步骤均在常温(15-25 $^{\circ}$ C)进行。

材料取用说明

请戴上紫外线护目镜，以免紫外线对眼睛造成伤害。紫外线下，切下含有目标 DNA 片段的凝胶块：

- ❖ 凝胶块包含所有的目标 DNA 片段；
- ❖ 尽量将多余的凝胶切除。

操作步骤 (请严格按照本操作说明进行相关实验操作)

使用前请先在 Buffer WB1 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

1. 用干净的手术刀将单一的目标 DNA 条带从琼脂糖凝胶中切下(尽量切除多余的凝胶), 放入干净的离心管中。
2. 称取胶块重量, 按以下情况加入相应体积的 Buffer GE(如凝胶重为 100 mg, 其体积可视为 100 μ L, 以此类推)。

a 若胶浓度 \leq 2%时, 向胶块中加入 **3 倍体积 Buffer GE**。

b 若胶浓度 $>$ 2%时, 建议使用 **6 倍体积 Buffer GE**。

3. 将已加入 Buffer GE 的离心管置于 **60°C**水浴或者金属浴中 **10 min**, 或直至胶块完全溶解。期间, 每隔 2-3 min 对离心管进行上下翻转混匀一次, 以帮助胶块溶解。

注意: 若胶块体积过大, 可事先将胶块切成碎块。

4. *可选步骤: 待胶块完全溶解后, 向含有 DNA 片段的溶胶混合液中加入 60%溶胶混合液体积的异丙醇(如 0.1 g 凝胶加入 300 μ L Buffer GE 溶胶后, 其体积可视为 400 μ L, 需补加 240 μ L 异丙醇, 以此类推), 剧烈震荡混匀。

注意: 该步骤用于回收 200 bp 及其以下的目的片段, 若回收的目的片段大于 200 bp, 请跳过该步骤。

5. 将离心柱(DNA-Only Column)放入收集管中, 将含有 DNA 片段的溶胶混合液加入离心柱中, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心 1 min。弃掉收集管中的废液。

注意: 离心柱容积为 800 μ L, 若样品体积大于 800 μ L 可分批加入。

6. 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **700 μ L Buffer WB1**(使用前请检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。

注意: 若回收的 DNA 将用于盐敏试验(如测序、平末端链接), 可以在加入 Buffer WB1 后放置 2-5 min, 再进行离心。

7. 将离心柱放回收集管中, 重复步骤 6 一次。

8. 将离心柱放回收集管中, 12,000 rpm (\sim 13,400 \times g)空管离心 2 min, 去掉离心柱中残余的 Buffer WB1。

注意: Buffer WB1 中乙醇的残留会影响后续的酶反应(酶切、PCR 等)实验。

9. 将离心柱转移至新的 1.5 mL 离心管中, 向膜中央悬空滴加 **30-50 μ L** 已于 65°C 预热的 **Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 2 min, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心 1 min。

注意: Buffer EB 的体积不应少于 15 μ L, 在推荐洗脱液体积范围内, 适当增加 Buffer EB 体积, 可提高 DNA 得率。如果希望提高 DNA 的浓度, 可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中, 12,000 rpm (\sim 13,400 \times g)离心 1 min。

