



Gel Extraction Kit

琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒

Cat.No. CW2302

产品简介

本试剂盒采用新型硅基质膜技术和试剂配方，通过独特的离心吸附柱快速结合的技术，通过结合DNA-洗涤-洗脱步骤即可从普通或低熔点琼脂糖凝胶中回收纯化100 bp- 10 kb的 DNA片段，胶速度快，回收率高。又能用于直接纯化PCR产物，满足多种实验需求。溶胶液中含有 pH 指示剂，可根据颜色来判断溶胶回收是否达到最佳状态。每个吸附柱可吸附高达10 μg的DNA，同时有效去除引物、酶、矿物油、琼脂糖等杂质。纯化回收的DNA纯度及浓度高，完整性好，可直接用于测序、连接和转化、标记、体外转录等分子生物学实验。

储存条件

所有组分可在干燥、室温（15-30℃）环境稳定保存。

产品内容

Component	CW2302M 200 preps
Buffer PG	100mL
Buffer PS	60 mL
Buffer PW (concentrate)	50 mL
Buffer EB	30 mL
Spin Columns DM with Collection Tubes	200

自备试剂

无水乙醇, 异丙醇。

实验前准备及重要注意事项

1. 第一次使用前应按试剂瓶标签的说明在Buffer PW中加入无水乙醇。
2. 使用前请检查Buffer PG, 如果出现结晶或者沉淀, 可在37°C水浴中放置3-5分钟,即可恢复澄清。
3. 电泳时最好使用新的电泳缓冲液, 避免影响电泳和回收效果; 如下一步实验要求较高, 请尽量使用TAE电泳缓冲液。
4. 切胶时, 紫外照射时间应尽量短, 以免对DNA造成损伤。
5. 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。
6. 将水浴锅预热至50°C。
7. Buffer PG中含有pH指示剂, 当 $\text{pH} \leq 7.5$ 时溶液的颜色为黄色, 此时DNA才能够有效的与膜结合, 当pH值偏高时溶液的颜色变为桔红色和紫色, 需要进行调整。
8. 所有离心步骤均可室温下进行。

一、凝胶回收

操作步骤 (快速)

1. 将单一目的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 (自备) 中, 称量计算凝胶重量 (提前记录离心管重量)。
注意: 若胶块的体积过大, 可将胶块切成碎块。
2. 向胶块中加入1倍体积Buffer PG (如凝胶重为100 mg, 其体积可视为100 μL , 依此类推)。
3. 50°C水浴温育, 其间每隔2-3分钟温和地上下颠倒离心管, 待溶胶液为黄色, 以确保胶块充分溶解。如果还有未溶的胶块, 可再补加一些溶胶液或继续放置几分钟直至胶块完全溶解。
注意: 1) 凝胶完全融解后胶溶液为黄色, 可进行后续操作; 若胶溶液为桔红色或紫色, 可向胶溶液中加入10-30 μL 的3 M醋酸钠 (pH 5.0), 将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。
2) 胶块完全溶解后最好将胶溶液温度降至室温再上柱, 吸附柱在较高温度时结合DNA的能力较弱。
4. (可选步骤) 当回收片段 < 300 bp时, 应加入1/2胶体积的异丙醇, 上下颠倒混匀 (如凝胶重100 mg, 则加入50 μL 的异丙醇)。

5. 将步骤3或4所得溶液加入到已装入收集管的吸附柱中, 室温放置2分钟, 13,000 rpm 离心1分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
注意: 吸附柱容积为750 μL , 若样品体积大于750 μL 可分批加入。
6. 向吸附柱中加入450 μL Buffer PW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 13,000 rpm 离心1分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
注意: 如果纯化的DNA用于盐敏感的实验(例如平末端连接或直接测序), 建议加入Buffer PW静置2-5分钟再离心。
7. 重复步骤6。
8. 13,000 rpm离心1分钟, 倒掉收集管中的废液。
注意: 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会影响后续的酶促反应(酶切、PCR等)。
9. 将吸附柱放到一个新的1.5 mL离心管(自备)中, 向吸附膜中间位置悬空滴加50 μL Buffer EB, 室温放置2分钟。13,000 rpm离心1分钟, 收集 DNA溶液。 -20°C 保存 DNA。

操作步骤 (常规)

1. 将单一目的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(自备)中, 称量计算凝胶重量(提前记录离心管重量)。
注意: 若胶块的体积过大, 可将胶块切成碎块。
2. 向胶块中加入1倍体积Buffer PG (如凝胶重为100 mg, 其体积可视为100 μL , 依此类推)。
3. 50°C 水浴温育, 其间每隔2-3分钟温和地上下颠倒离心管, 待溶胶液为黄色, 以确保胶块充分溶解。如果还有未溶的胶块, 可再补加一些溶胶液或继续放置几分钟直至胶块完全溶解。
注意: 1) 凝胶完全融解后胶溶液为黄色, 可进行后续操作; 若胶溶液为桔红色或紫色, 可向胶溶液中加入10-30 μL 的3 M醋酸钠 (pH 5.0), 将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。
2) 胶块完全溶解后最好将胶溶液温度降至室温再上柱, 吸附柱在较高温度时结合DNA的能力较弱。
4. (可选步骤) 当回收片段 <300 bp时, 应加入1/2胶体积的异丙醇, 上下颠倒混匀(如凝胶重100 mg, 则加入50 μL 的异丙醇)。
5. 柱平衡: 向已装入收集管的吸附柱(Spin Columns DM)中加入200 μL Buffer PS, 13,000 rpm ($\sim 16,200\times g$) 离心1分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
6. 后续步骤按实验一凝胶回收操作步骤(快速)的第5-9步进行操作。

二、PCR反应液回收

操作步骤 (快速)

1. 估计PCR反应液的体积, 向其中加入等体积Buffer PG, 充分混匀。
注意: 对于回收小于150 bp的小片段可将溶液的体积增加到3倍以提高回收率; 溶液混匀后呈现黄色, 可进行后续操作; 若溶液为桔红色或紫色, 可向溶液中加入10-30 μL 的3 M醋酸钠 (pH 5.0), 将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。
2. (可选步骤) 当回收片段<300 bp时, 应加入1/2PCR反应液体积的异丙醇, 上下颠倒混匀。
3. 将步骤1或2所得溶液加入到已装入收集管的吸附柱中, 室温放置2分钟, 13,000 rpm 离心1分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
4. 后续步骤按实验一凝胶回收操作步骤 (快速) 的第6-9步进行操作。

操作步骤 (常规)

1. 估计PCR反应液的体积, 向其中加入等体积Buffer PG, 充分混匀。
注意: 对于回收小于150 bp的小片段可将溶液的体积增加到3倍以提高回收率; 溶液混匀后呈现黄色, 可进行后续操作; 若溶液为桔红色或紫色, 可向溶液中加入10-30 μL 的3 M醋酸钠 (pH 5.0), 将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。
2. (可选步骤) 当回收片段<300 bp时, 应加入1/2PCR反应液体积的异丙醇, 上下颠倒混匀。
3. 柱平衡: 向已装入收集管中的吸附柱 (Spin Columns DM) 中加入200 μL Buffer PS, 13,000 rpm (~16,200 $\times g$) 离心1分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
4. 将步骤1或2所得溶液加入到已装入收集管的吸附柱中, 室温放置2分钟, 13,000 rpm 离心1分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
5. 后续步骤按实验一凝胶回收操作步骤 (快速) 的第6-9步进行操作。
注意: 1) 为了提高DNA的回收量, 可将离心得到的溶液重新滴加到吸附柱中, 室温放置2分钟, 13,000 rpm 离心1分钟。
2) 洗脱体积不应小于30 μL , 体积过少会影响回收效率。
3) 回收大于10 kb的DNA片段时, Buffer EB应在50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中预热, 可增加回收效率。