



版本号: 202408V00

## Gel Rapid Extraction Kit

### 琼脂糖凝胶DNA快速回收试剂盒

Cat. No. CW2303

#### 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, 采用结合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。无需进行柱平衡, 整个操作过程快速方便, 十几分钟即可完成片段回收。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  $\mu$ g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纯度及回收量高, 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°C) 环境稳定保存。

#### 产品内容

| Component                             | CW2303M<br>200 preps |
|---------------------------------------|----------------------|
| Buffer GP                             | 100 mL               |
| Buffer PW (concentrate)               | 60 mL                |
| Buffer EB                             | 30 mL                |
| Spin Columns DA With Collection Tubes | 200                  |

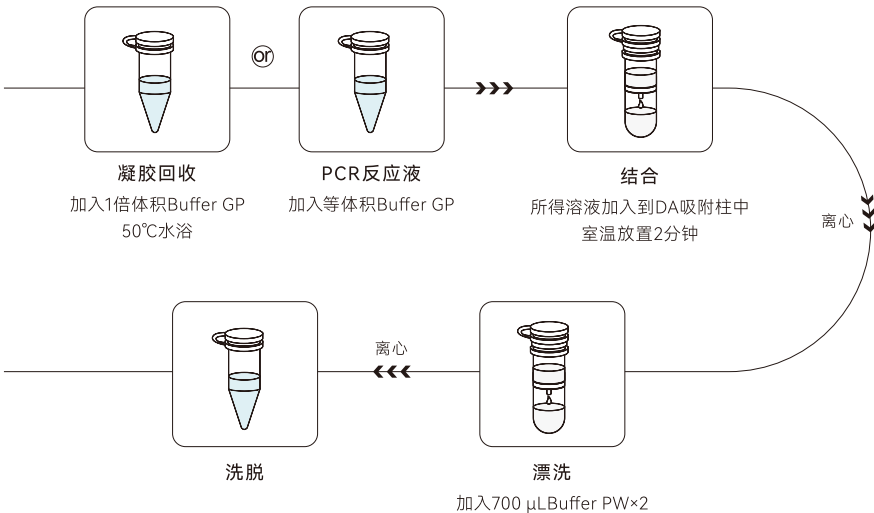
自备试剂

无水乙醇, 异丙醇。

实验前准备及重要注意事项

- 1. 第一次使用前应按照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 GP, 如果出现结晶或者沉淀, 可在37℃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℃。
- 7. Buffer GP中含有pH指示剂, 当pH≤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。

实验流程



## 一、凝胶回收操作步骤

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 GP（如凝胶重为100 mg，其体积可视为100  $\mu\text{L}$ ，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  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$ 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  $\mu\text{L}$ ，若样品体积大于750  $\mu\text{L}$ 可分批加入。**

6. 向吸附柱中加入700  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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。

## 二、PCR反应液回收操作步骤

1. 估计PCR反应液的体积，向其中加入等体积Buffer GP，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  $\mu\text{L}$  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。

注意: 吸附柱容积为750  $\mu\text{L}$ , 若样品体积大于750  $\mu\text{L}$ 可分批加入。

4. 后续步骤按实验一凝胶回收操作步骤的第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  $\mu\text{L}$ , 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°C水浴中预热, 可增加回收效率。