

## Gel/PCR Extraction Kit

## 琼脂糖凝胶 DNA/PCR 产物回收试剂盒

## 目录号

DHYC58

## 试剂盒组成

Component	DHYC58 (100 preps)
Buffer BL	10 ml
Buffer GL	100 ml
Buffer WB (concentrate)	25 ml (使用前按瓶上标签加入无水乙醇)
Buffer EB	10 ml
Spin Columns EC with Collection Tubes	100

## 保存方法

室温（15-30°C）保存。

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

本试剂盒采用独特的缓冲液系统和高吸附性硅基质材料,适用于从 TAE / TBE 琼脂糖凝胶或 PCR/酶切产物中回收 DNA 片段,同时除去蛋白质、其它有机化合物、无机盐离子等杂质。使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

## 注意事项

- 1) 平衡液 Buffer 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°C 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  $\mu\text{g}$ , 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。

## 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 Spin Columns EC 中(**吸附柱放入收集管中**)加入 100  $\mu\text{l}$  平衡液 Buffer BL, 12,000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ ) 离心 1 min,弃废液,将吸附柱重新放回收集管中。  
(**请使用当天处理过的柱子**)
  2. 从琼脂糖凝胶中回收 DNA
    - a. 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)。
    - b. 向胶块中加入 3 倍体积 Buffer GL (**如果凝胶重 100 mg,则加入 300  $\mu\text{l}$  Buffer GL,以此类推**), 56°C 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。  
**注意: 1) 如果凝胶浓度 > 2%, 应加入 6 倍体积 Buffer GL。**  
**2) 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  $\mu\text{l}$  异丙醇,以提高回收效率。**
    - c. 下接步骤 3。
-

### PCR 产物或酶切反应液中回收 DNA

- a. 估计 PCR 反应液或酶切反应液的体积，向其中加入 5 倍体积的结合液 Buffer GL，充分混匀（无需去除石蜡油或矿物油）。如 PCR 反应体系为 50  $\mu\text{l}$ （不包括石蜡油体积），则加入 250  $\mu\text{l}$  Buffer GL。
  - b. 下接步骤 3。
3. 将上一步所得溶液加入到吸附柱 Spin Columns EC 中（吸附柱放入收集管内），室温放置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min，弃废液。  
**注意：吸附柱容积为 750  $\mu\text{l}$ ，若样品体积超过 750  $\mu\text{l}$  可分两次加入。**
  4. 向吸附柱 EC 中加入 600  $\mu\text{l}$  Buffer WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm 离心 1 min，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
  5. 重复操作步骤 4。
  6. 将吸附柱 EC 放回空收集管中，12,000 rpm 离心 2 min，尽量除去漂洗液。  
**注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。**
  7. 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  $\mu\text{l}$  Buffer EB，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min 收集 DNA 溶液。  
**注意：1) Buffer EB 不应少于 30  $\mu\text{l}$ ，体积过小影响回收效率。  
2) 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。  
3) Buffer EB 在 56°C 水浴中预热可增加回收效率。  
4) 若后续做测序，需使用 ddH<sub>2</sub>O 做洗脱液，并保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。**
-