

## 产品名称&产品编码

产品名称: 高效琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒(升级版离心柱型)

产品编码: KT013P-100rxn

## 试剂盒组成

Components	KT013P-100rxn
GenClean Column GC-2u	100 个
2-mL Collection Tube	100 个
1.5-mL Collection Tube	100 个
Buffer CBS	25ml
Binding Solution*	50 ml
WA Solution	60 ml
Wash Solution(concentrated)*	24 ml
Elution Buffer	10 ml

注: \*Wash Solution在使用前应按要求加入乙醇。

\*适当将Elution Buffer进行分装, 有利于减少污染, 建议直接用ddH<sub>2</sub>O代替。

\*Binding Solution: 应注意避免强光直射, 否则溶液易变质。

## 产品特点

(1) 操作简便: 溶胶时间短, 所加溶胶液体积小, 无需异丙醇沉淀, 整个纯化过程最短仅需15min。

(2) 稳定性好: 经特殊处理后的硅胶膜差异小, 实验可重复性好。

(3) 高质量的 DNA: 洗脱体积可低至 10 $\mu$ l, 易获得高产量浓缩的 DNA; 溶胶时, 线型 DNA 暴露时间短, 回收的 DNA 片段完整性好。

(4) 小片段回收能力强: 对于 50bp~100bp 之间的片段, 不用做任何特殊处理, 即可达到较理想的回收效率(熟练操作可以获得>50%的回收效率)。

## 保存与运输

室温(15 $^{\circ}$ C~25 $^{\circ}$ C)下可以稳定存放 1 年, 如果温度过高或需长期保存, 请放置于 2~8 $^{\circ}$ C; 室温运输。

## 产品简介

本试剂盒采用特殊处理的硅胶膜和高效的溶胶体系, 可简单、快速地从 TAE 或 TBE 琼脂糖凝胶中回收长度为 100bp~10kb 的高质量 DNA 片段。特殊处理的硅胶膜可以选择性地特异吸附高达 10 $\mu$ g 的 DNA 片段, 但不吸附酶、矿物油和其它杂质, 最后 DNA 片段可用 D 从 GenClean 柱洗脱下来。回收率高达 50~80%; 洗脱体积可低至 20 $\mu$ l, 易获得高纯、浓缩的 DNA 片段; 回收的 DNA 片段可用于各种常规实验, 例如酶切、连接、转化、PCR 模板、测序和文库构建等。

## 安全说明

Binding Solution 含盐酸胍等成分, 有刺激性, 不能直接入口或接触眼、皮肤等器官; 操作过程中应穿上实验服, 戴好乳胶手套, 若沾染眼睛后, 请立即用清水或生理盐水冲洗, 必要时寻求医生的帮助。

## 自备器材

台式高速离心机、恒温水浴锅、移液器、电泳槽、凝胶成像系统等; DNA Marker, Loading dye, 琼脂糖, 电泳缓冲液 (1xTAE 或 0.5xTBE), 1.5ml 离心管等。

## 实验准备

Wash Solution 第一次使用前请按试剂瓶上的要求加入 4 倍体积的无水乙醇或 95% 的乙醇, 并做好标记, 即 24ml Wash Solution 中加入 96ml 无水乙醇, 使用后应立即盖紧盖子以免乙醇挥发。

电泳时请尽量使用新鲜配制的 TAE 或者 TBE 缓冲液, 以免影响电泳及回收效果。

准备 60 $^{\circ}$ C 水浴。

### 快速操作流程

1. DNA 吸附柱平衡处理：向吸附柱中加入 200μl buffer CBS, 12000rpm 离心 1min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回到收集管中备用。

注意：请使用当天处理过的 DNA 吸附柱。且该步骤限于试剂盒存放比较久, 回收效果不好情况下使用, 一般不需要该步操作。

2. 从琼脂糖凝胶中切下含有目的片段的凝胶, 估计重量或精确称量重量。

3. 每 100mg 琼脂糖凝胶加入 100μl Binding Solution, 于 50~60℃ 水浴 3~5min, 期间每 2~3min 间断轻微颠倒混匀, 直至胶块完全融化。

注：为操作方便, 可统一加入 400μl Binding Solution。

4. 将上述混合液转移至套有 2ml 收集管的吸附柱 GC-2u 中, 室温放置 2min, 6,000rpm 室温离心 1min, 取出吸附柱 GC-2u, 并倒掉收集管中废液。

5. 将吸附柱 GC-2u 重新放回收集管中, 加入 500μl WA Solution, 于 12,000rpm, 室温离心 1min, 倒掉收集管中废液。

6. 将吸附柱 GC-2u 重新放回收集管中, 加入 500μl Wash Solution, 于 12,000rpm, 室温离心 1min, 倒掉收集管中废液。

7. 重复步骤 6 一次。

8. 将吸附柱 GC-2u 重新放回收集管中, 12,000 rpm, 室温离心 1min, 之后, 打开吸附柱 GC-2u 的盖子, 室温放置 5~10min 或 50℃ 放置 3~5min, 以彻底去除 Wash Solution。

9. 将吸附柱 GC-2u 放入干净的 1.5ml 收集管中(试剂盒中自带), 对膜中央悬空加入 15~20μl Elution Buffer, 盖好盖子, 37℃ 放置 2min, 12,000rpm 离心 1min, 离心管中的液体即为包含目的 DNA 片段的溶液。

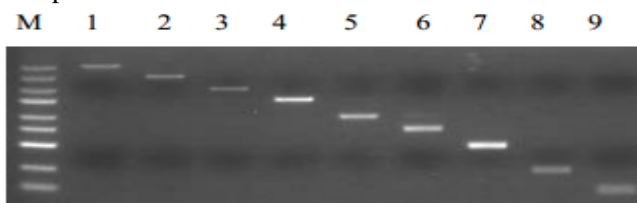
注：

建议 Elution Buffer 可直接用 ddH<sub>2</sub>O 代替；

若使用 Elution Buffer 建议加热到 50-60° 以提高回收效率

图 1

250 bp DNA marker 切胶回收后电泳



1.5% Agarose 凝胶电泳

M:DNA Marker (100bp~5kb)。

Lane1-9: 切胶回收后的片段。

Lane1:5kb Lane2:3kb

Lane3:2kb Lane4:1.5kb

Lane5:1kb Lane6:750bp

Lane7:500bp Lane8:250bp

Lane9:100bp

### 常见问题分析及处理方案

#### DNA 回收率低

Wash Solution 中没有乙醇	在第一次使用本试剂盒前, 必须添加 4 倍体积的无水乙醇, 并在使用完后盖紧瓶盖以免乙醇挥发。
胶块溶解不完全	在 50-60℃ 水浴过程中, 应每 2-3min 间断轻微颠倒混匀, 直至胶块完全融化, 否则 DNA 片段会残留在未融化的凝胶块中。
溶胶液变为橙红色或粉红色	当溶胶液由原来的浅橙黄色变为橙红色或粉红色时, 说明溶胶液的 pH 值已超过 7.5, 吸附膜对 DNA 的吸附能力直线下降, 此时必须添加 10ul 3M NaAc (pH5.0), 将溶胶液颜色调整为原来的浅橙黄色。
电泳液 pH 值过高	当电泳液被反复使用或制备不当时, 电泳液的 pH 会偏高, 从而导致溶胶混合液 pH 偏高, 此时可添加 10ul 3M NaAc (pH5.0), 将溶胶液颜色调整为原来的浅橙黄色。建议使用新鲜配制的 TAE 或 TBE 缓冲液。

洗脱液洗脱效果较差	请使用低盐、pH 为 8.0-8.5 的洗脱液，如本试剂盒中的 Elution Buffer、去离子水等。将洗脱液添加在吸附膜的中央位置，保证洗脱液能完全浸润吸附膜。
DNA 片段长度较长	当 DNA 片段长度较长时回收率都会有所下降，主要原因在于洗脱效率较低。建议在回收长片段 DNA 时应适当增加待回收 DNA 样品的点样量，混合振荡时不要过于剧烈，并且适当增加洗脱体积至 20ul，加热至 65℃有利于提高洗脱效率。

回收的 DNA 在后续实验中（如连接反应、酶切等）使用效果较差

盐浓度较高	漂洗阶段，第一次加入 WA Solution 后将离心柱于室温下放置 3min，再离心。
有乙醇残存	在使用 Wash Solution 漂洗两次之后，必须再将离心柱于离心机中 12,000rpm 离心 1min，再于室温或 50℃烘箱中开盖放置 5~10min，以保证除尽残存的乙醇。
洗脱产物的琼脂糖电泳呈小弥散带或有多余条带	可能洗脱物中含有 ssDNA。可以将洗脱产物于 95℃加热 1min，慢慢冷却到室温，使单链 DNA 重新退火复性即可。