Gel DNA Extraction Mini Kit

琼脂糖凝胶 DNA 小量回收试剂盒

本产品适合于琼脂糖凝胶电泳后回收不同大小的 DNA 片段。试剂盒采用硅胶柱纯化技术，可快速纯化得到高纯的 DNA。纯化的 DNA 可直接用于自动测序，连接，酶切，PCR，标记等下游应用。此外本产品也适合于从 PCR 产物中，酶促反应液中，或粗制的 DNA 中回收纯化 DNA。

产 品 组 份

产 品 编 号	DG212-01	DG212-02	DG212-03
纯化次数	10 次	100 次	250 次
DNA Extraction Micro Columns	10	100	250
2ml Collection Tubes	10	100	250
Gel Lysis Buffer	9 ml	90ml	200 ml
Buffer W2A	5 ml	24 ml	2 x30 ml
Buffer EB	1.5 ml	10 ml	60 ml

保 存 条 件

本产品除可在室温(15~25℃)保存 12 个月。

准 备 事 项

- 水浴锅
- Buffer W2A 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

实 验 步 骤（从琼脂糖凝胶中回收 DNA）

1. 将电泳后的琼脂糖凝胶放置于紫外灯下，切下目的 DNA 片段的凝胶，减少不必要的凝胶块的加入。

2. 称取 100~300mg 琼脂糖，加入 600μl Gel Lysis Buffer。42ºC 水浴 10 分钟使凝胶块完全溶解。

   水浴过程可进行颠倒振荡加速凝胶块溶解。若回收低于 80bp 片段或大于 5Kb 片段，溶胶后可加入 150μl 异丙醇涡旋混匀提高回收效率。

3. 短暂离心收集管壁上的液滴。将 DNA Extraction Micro Columns 套在 2ml collection Tube 中。转移所有溶胶液至柱子，13000 × g 离心 10 秒。

4. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 200μl Buffer Gel Lysis Buffer 至柱子中。13,000 × g 离心 10 秒。

5. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 500μl Buffer W2A 至柱子中。13,000 × g 离心 10 秒。

6. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 500μl Buffer W2A 至柱子中。13,000 × g 离心 10 秒。

7. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。13,000 x g 离心 2 分钟。

   若下游反应加入 DNA 产物量较多时，打开柱子盖子，室温干燥 15 分钟。

8. 把柱子套在 1.5ml 离心管中，加入 20~50μl Buffer EB 至柱子膜中央。放置 2 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。丢去柱子，把 DNA 保存于-20℃。

   回收较大片段时，进行二次洗脱以提高产量。

实 验 步 骤（从反应液中回收 DNA）

1. 取 100ul 反应液，加入 200ul Gel Lysis Buffer，颠倒或涡旋混匀。
2. 将柱子套在收集管中。把混合液转移至柱子中。13,000 × g 离心 10 秒。
3. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 500μl Buffer W2A 至柱子中。13,000 × g 离心 10 秒。
4. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 500μl Buffer W2A 至柱子中。13,000 × g 离心 10 秒。
5. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。13,000 x g 离心 2 分钟。

   若下游反应加入 DNA 产物量较多时，打开柱子盖子，室温干燥 15 分钟。
6. 把柱子套在 1.5ml 离心管中，加入 20~50μl Buffer EB 至柱子膜中央。放置 2 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。丢去柱子，把 DNA 保存于-20℃。

   回收较大片段时，进行二次洗脱以提高产量。

常 见 问 题

1. 柱子堵塞

- **样品用量太多：**凝胶浓度过高，提高裂解液用量。
- **样品消化不充分：**提高裂解温度至 50 度加热。
- **消化液存在不溶解的物质：**若样品消化后仍存在明显的胶块，增加裂解液用量。

2. DNA 产量低

- 参考柱子堵塞部分。
- **样品消化不充分:** 延长消化时间让样品充分消化。
- Buffer W2A 没有加入乙醇稀释。
- **洗脱不充分:** 洗脱液需加到膜中央，增加洗脱体积或次数。