



Gel Extraction Kit

For DNA fragment(30bp-10kb) extraction from gel

Research use only

Store at room temperature



目 录

产品介绍	3
产品特点	3
试剂盒应用	4
回收 DNA 片段的应用	4
DNA 片段的存储	4
产品质量控制	4
试剂盒内容	5
产品信息	5
储存条件	5
试剂盒组分信息	6
注意事项	6
DNA 回收率	7
操作前准备事项	8
实验材料和设备	8
安全性	8
操作指南	9
● 材料取用说明	9
● 胶回收操作步骤	10
DNA 浓度及纯度测定	11
操作示意图	12
问题分析指南	13

产品介绍

该试剂盒采用本公司研制的离心柱和配方，可以从琼脂糖凝胶中高效率的回收高纯度 DNA 片段。试剂盒回收 DNA 片段范围广，一般条件下可以回收 30bp-10kb 的 DNA 片段。最小可以使用 30 μ l 洗脱液，提高回收 DNA 浓度。

试剂盒操作便捷，步骤少，只需数次离心即可同时处理多个样品，15 分钟即可获得高纯回收 DNA 片段。

产品特点

- ◆ DNA 回收范围广：可以回收短至 30bp，大到 10kb 的 DNA 片段。
- ◆ 回收效率高：最高回收效率可达 80%以上。
- ◆ 小体系洗脱：最少可以使用 30 μ l 洗脱液洗脱，可以有效的提高回收 DNA 片段浓度。
- ◆ 速度快：操作简便，可在 15 分钟内完成 DNA 片段回收。
- ◆ 安全：无需有机试剂抽提。
- ◆ 质量高：回收得到的 DNA 片段纯度高，能够满足后续各种实验。

试剂盒应用

该试剂盒适用于回收琼脂糖凝胶中的 DNA 片段(30bp-10kb)。

回收 DNA 片段的应用

胶回收试剂盒回收获得的 DNA 片段纯度高，可用于常规分子生物学操作，如：酶切、连接、PCR、测序等实验。

DNA 片段的储存

建议使用 Buffer EB 洗脱 DNA 片段，直接用于下游实验或储存于-20℃

产品质量控制

按照福际生物试剂盒质量检测体系标准(FOREGENE's Total Quality Management System)，每一批次的胶回收试剂盒都严格进行多次测试，确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

试剂盒内容

Gel Extraction Kit 胶回收试剂盒			
试剂盒组成	DE-02011	DE-02012	DE-02013
	50 次	100 次	250 次
Buffer GE*	50ml	100ml	250ml
Buffer WB1	15ml	30ml	75ml
Buffer EB	10ml	20ml	50ml
离心柱	50 个	100 个	250 个
收集管	50 个	100 个	250 个
说明书	1 份	1 份	1 份

*: Buffer GE中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	~15min (24 个样品)
离心机	台式离心机	纯化柱 DNA 承载量	30 μ g
离心柱液体盛装量	700 μ l	最小洗脱体积	30 μ l
凝胶处理量(1 个纯化柱)	\leq 400mg	回收效率*	70-80%

*: DNA片段的回收效率与片段大小、凝胶种类 (TAE、TBE)、切胶块大小、洗脱体系等因素相关。因此，实际操作中，回收效率会在比70-80%略低。

储存条件

本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下，可保存 12 个月；如需保存更长时间可置于 2–8°C。

注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

试剂盒组分信息

- ◆ Buffer GE: 在 60°C 条件下溶解凝胶块, 使 DNA 片段从凝胶中释放出来。
- ◆ Buffer WB1: 去除 DNA 中的残留的盐离子。
- ◆ Buffer EB: 洗脱纯化柱膜上的 DNA。
- ◆ DNA-Only Column: 特异吸附裂解产物中的基因组 DNA。

注意事项 : (请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ◆ 琼脂糖凝胶电泳分离 DNA 时, 使用新鲜的 TAE/TBE Buffer 和新配制的凝胶。
- ◆ 琼脂糖浓度过高会影响胶回收的效率和质量, 应尽可能使用 2% 及其以下的琼脂糖凝胶进行电泳。
- ◆ 切胶时, 紫外照射时间应尽量短, 以免对 DNA 造成损伤。应尽量切除多余的胶块, 单个离心柱能最多能从 400mg 凝胶中回收到 70-80% 的目的片段, 若切下的胶块 > 400mg, 请使用多个离心柱进行回收。
- ◆ 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。建议, DNA 片段的初始量 ≥ 400ng。
- ◆ 试剂盒使用前, 请务必检查 Buffer WB1 是否按说明添加了无水乙醇。Buffer WB1 在使用前分别添加 60ml 无水乙醇(DE-02011)、120ml 无水乙醇(DE-02012)、300ml 无水乙醇(DE-02013)。
- ◆ 使用前, 仔细检查 Buffer GE 中是否有沉淀析出, 若有沉淀析出, 请将其置于 37°C 溶解, 混匀后再使用。
- ◆ 洗脱体积: Buffer EB 不应少于 30μl, 否则会影响 DNA 回收效率。
- ◆ 所有离心步骤均为使用台式离心机常温(15-25°C)离心。
- ◆ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行。

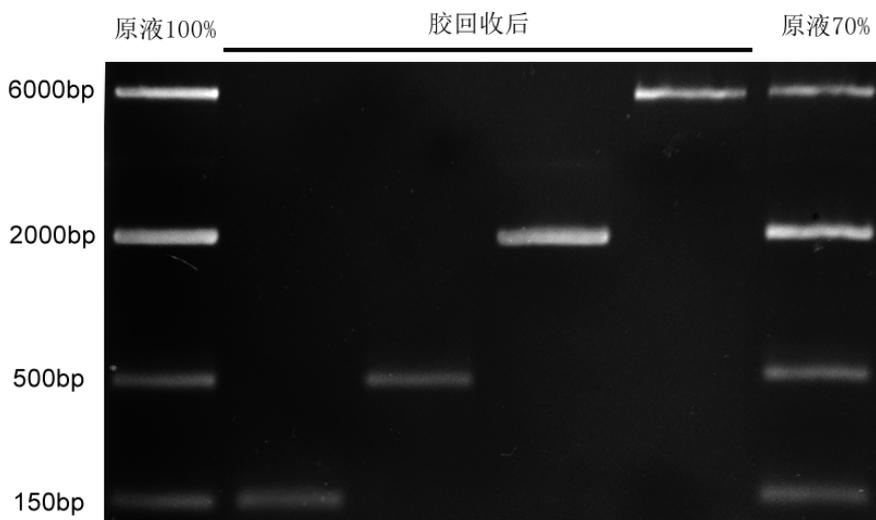
DNA 回收率

鉴于纯化柱的特性，对于不同片段的 DNA 其吸附能力以及洗脱效率也不一样，因此胶回收的效率会有所不同。一般的胶回收效率见下表：

凝胶种类	DNA 片段回收率*				OD260/280
	30-60bp	60bp-7kb	7-10kb	>10kb	
TAE	~50%	~70-80%	~60-70%	<50%	≈1.7-1.9
TBE	~40%	~60-70%	~50-60%	<40%	≈1.7-1.9

*经测试，该试剂盒对于 23kb 的 DNA 片段回收效率在 20%左右。

下图为从 TAE 凝胶中回收 DNA 片段实例：



操作前准备事项

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读说明书。胶回收试剂盒操作简单、方便、快速，说明书提供了整个试剂盒的正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

实验材料和设备

- ◆ 切好的含 DNA 片段的凝胶块。
- ◆ 1.5ml 或 2ml 无核酸酶离心管。
- ◆ 无水乙醇。
- ◆ 台式离心机($\geq 13,400\times g$)、60°C水浴或金属浴、移液器等。

安全性

- ◆ 本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床医疗、食品及化妆品等用途。
- ◆ 使用化学品时，穿戴合适的实验服，手套，防护眼镜等。
- ◆ Buffer GE 含有离液盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer WB1 含无水乙醇：易燃。

操作指南

请严格按照说明书进行胶回收相关操作。

材料取用说明

- ◆ 请戴上紫外线护目镜，以免紫外线对眼睛造成伤害。
- ◆ 在紫外线下，切下含有目的 DNA 片段的凝胶块：
 - ❖ 凝胶块包含所有的目的 DNA 片段。
 - ❖ 尽量将多余的凝胶切去。

胶回收操作步骤 (请严格按照本操作说明进行相关实验操作)

使用前请先在 **Buffer WB1** 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 用干净的手术刀将单一的目的 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。
2. 称取胶块重量，按以下情况加入相应体积的 **Buffer GE** (如凝胶重为 100mg，其体积可视为 100 μ l，以此类推)。

2a. 若胶浓度 \leq 2%时，向胶块中加入 3 倍体积 **Buffer GE**。

2b. 若胶浓度 $>$ 2%时，建议使用 6 倍体积 **Buffer GE**。

3. 将已加入 **Buffer GE** 的离心管置于 60 $^{\circ}$ C 水浴或者金属浴中 10min，或直至胶块溶解。期间，每隔 2-3min 对离心管进行上下翻转混匀一次，以帮助胶块溶解。

注意：若胶块体积过大，可事先将胶块切成碎块。

4. *可选步骤：待胶块完全溶解后，向含有 DNA 片段的溶胶混合液中加入 60%溶胶混合液体积的异丙醇(如 0.1g 凝胶加入 300 μ l **Buffer GE** 溶胶后，其体积可视为 400 μ l，需补加 240 μ l 异丙醇，以此类推)，剧烈震荡混匀。

注意：该步骤用于回收 200bp 及其以下的目的片段，若回收的目的片段大于 200bp，请跳过该步骤。

5. 将离心柱放入收集管中，将含有 DNA 片段的溶胶混合液加入离心柱中，12,000rpm(\sim 13,400 \times g)离心 1min。弃掉收集管中的废液。

注意：离心柱容积为 700 μ l，若样品体积大于 700 μ l 可分批加入。

6. 将离心柱放回收集管中，向离心柱中加入 700 μ l **Buffer WB1** (使用前请检查是否已加入无水乙醇)，12,000rpm(\sim 13,400 \times g)离心 1min，弃掉收集管中的废液。

注意：若回收的 DNA 将用于盐敏试验(如测序、平末端链接)，可以在加入 **Buffer WB1** 后放置 2-5min，再进行离心。

7. 将离心柱放回收集管中，重复步骤 6 一次。

8. 将离心柱放回收集管中，12,000rpm (\sim 13,400 \times g)空管离心 2min，去掉离心柱中残余的 **Buffer WB1**。

注意：Buffer WB1 中乙醇的残留会影响后续的酶反应(酶切、PCR 等)实验。

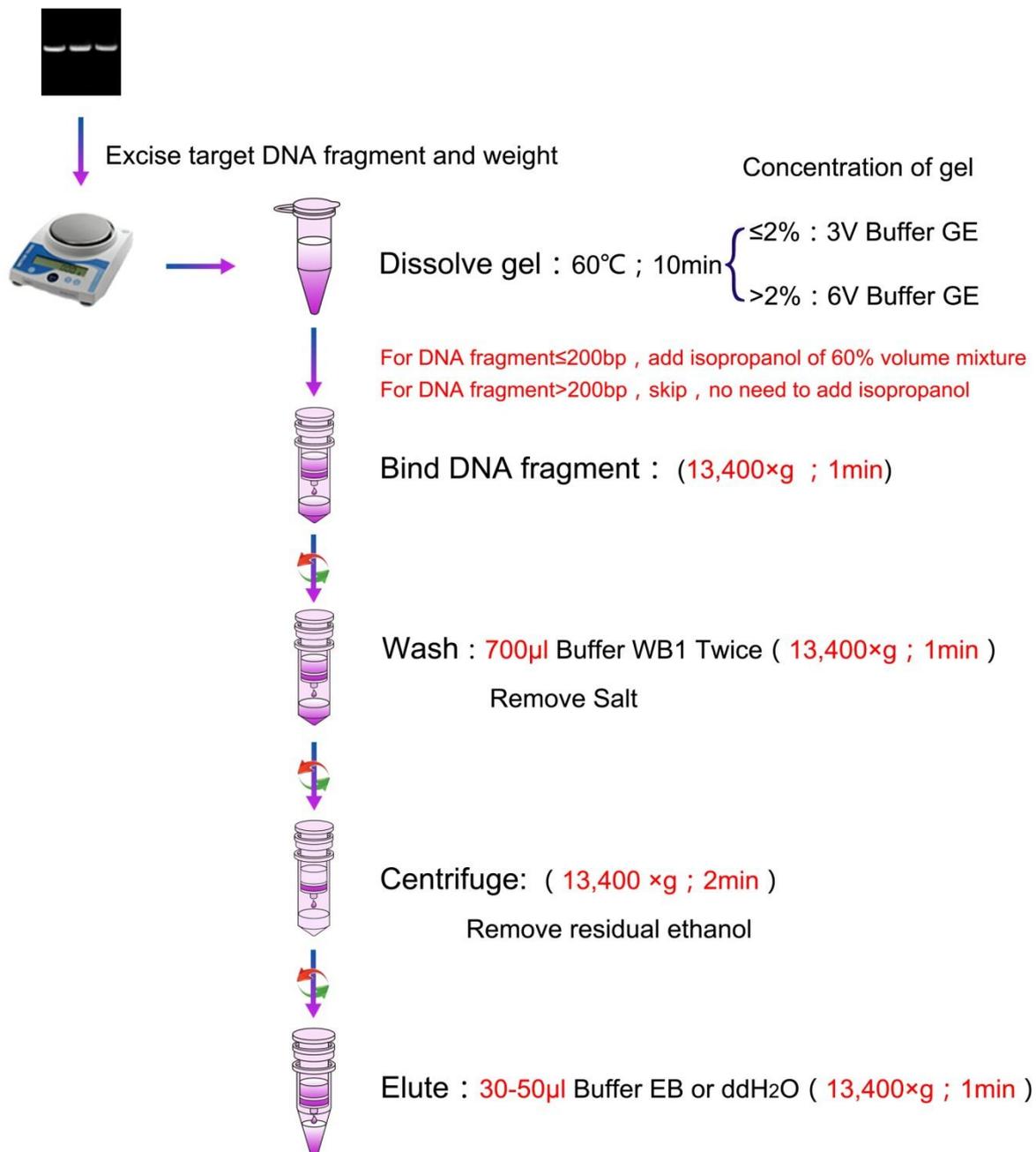
9. 将离心柱放到一个干净离心管中，向硅胶膜中间滴加 30-50 μ l 65 $^{\circ}$ C 预热的 **Buffer EB**，室温放置 2min。12,000rpm (\sim 13,400 \times g)离心 1min 收集 DNA 溶液。

注意：为了提高 DNA 的回收量，可将离心得到的溶液重新加回离心柱中，重复步骤 6。洗脱体积不应小于 30 μ l，体积过少影响回收效率。

DNA 浓度及纯度检测

- ◆ 得到的基因组 DNA 的质量与操作过程中的多种因素有关。DNA 可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。
- ◆ DNA 的 OD260 值为 1 相当于大约 50 μ g/ml 双链 DNA。
- ◆ DNA 的 OD260/280 \approx 1.7-1.9。如果洗脱时不使用洗脱缓冲液 Buffer EB，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

操作示意图



问题分析指南

以下针对凝胶 DNA 片段回收中可能遇到的问题进行分析,希望能对您的实验有所帮助。另外,对于在操作说明和问题分析以外的其他实验或技术上的问题,我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们: 028-66070618 或 E-mail:

Tech@foregene.com。

回收不到 DNA 片段或回收效率低

通常会有多种因素影响胶回收效率,比如:凝胶种类(TAE/TBE)、DNA 片段初始量、凝胶块的溶解程度、洗脱体积等。

常见原因分析:

1. 电泳缓冲液不新鲜。
建议:胶回收前,更换新电泳缓冲液进行电泳。
2. 切胶的时候没有将目的 DNA 条带切下。
建议:确认切下的胶块中包含有目的 DNA,尽量将所有的目的 DNA 都包含在切下的凝胶中以便获得较高的回收效率。
3. 溶胶液加入比例不合适。
建议:正确称量切下琼脂糖胶块的重量,按照说明书指示,加入正确体积的溶胶液。
4. 凝胶块溶解不充分。
建议:在 60°C 溶胶时,每间隔 2-3min 震荡混匀,确保凝胶块完全溶解。DNA 片段会残留在任何没有溶解的凝胶块中。
5. 切下胶块过大 (>00mg)。
建议:单个离心柱能最多能从 400mg 凝胶中回收 70-80% 的目的片段。若切下胶块超过 400mg,需使用多个离心柱进行回收。
6. Buffer WB 中忘记添加无水乙醇。
建议:参照说明书或试剂瓶上标签在 Buffer WB1 中添加正确体积的无水乙醇并混匀。
7. 洗脱液添加不正确。
建议:确认 Buffer EB 或 ddH₂O 滴加到了纯化柱膜中间位置;尤其是进行小体积洗脱的时候,一定要确定洗脱液滴加的位置正确,否则会导致无法回收 DNA。
8. 洗脱液使用不正确。
建议:有些特殊需求的实验需要使用纯水洗脱,请确定洗脱液的 pH 在 7.0-8.5 之间,否则将很大程度上影响洗脱效率。

回收的 DNA 影响下游实验

1. 洗脱下来的 DNA 片段中盐离子浓度过高。

建议：结合 DNA 片段的纯化柱在加入 700 μ l Buffer WB1 后，在室温放置 5min 再离心，以便能彻底的去除盐离子。

2. 洗脱下来的 DNA 片段中含有乙醇残留。

建议：Buffer WB1 洗涤纯化柱后，12,000rpm (~13,400 \times g) 空管离心 2min 一定不能省略；如果还有乙醇残留可以将纯化柱在室温放置 2-5min 再进行洗脱或者以 13,400rpm (~17,000 \times g) 离心 2min。

3. 洗脱液中含有琼脂糖污染。

建议：凝胶块没有完全溶解。如果凝胶块比较大，可以预先将胶块切小，并适当延长溶胶时间以确保凝胶块完全溶解。

中国·福际 World's Foregene

成都福际生物技术有限公司

电话: 028-83360257, 028-83361257

传真: 028-83361257

E-mail: info@foregene.com

[Http://www.foregene.com](http://www.foregene.com)

