



Gel Extraction Kit

Cat.No.DE-02011

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

For research use only

Store at room temperature



目 录

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

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30 bp-10 kb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30 bp，大到10 kb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(30 bp - 10 kb)。

回收DNA片段的应用

胶回收试剂盒回收获得的DNA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。

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
	50 T
Buffer GE*	50 mL
Buffer WB1	15 mL
Buffer EB	10 mL
DNA-Only Column	50 套
说明书	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	~15 min
离心机	台式离心机	离心柱液体盛装量	800 μ L
纯化柱 DNA 承载量	30 μ g	凝胶柱处理量(1 个纯化柱)	\leq 400 mg
洗脱体积	30-50 μ L	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 24 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: 特异吸附凝胶中的 DNA 片段。

DNA-Only Column 特性

DNA最大结合能力(Maximum binding capacity)	30 µg
上清最大载量体积(Maximum loading volume)	800 µL
最小洗脱体积(Minimum elution volume) *	30µl
最佳样本选取(Selection of samples)	TAE凝胶块
样本最大初始量(Maximum amount of starting material) *	400 mg

*: 30µl 的最小洗脱体系是在兼顾 DNA 回收率及浓度给出的比较合理的建议体积。如果为了提高 DNA 的产量, 可以适当增加洗脱液体积; 如果为了提高纯化得到的 DNA 浓度, 在牺牲一部分 DNA 得率的前提下, 适当的减少洗脱液体积, 比如采用 15µl 的洗脱体系, 以期得到更高浓度的 DNA。

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 片段回收效率*				OD260/280
	30-60 bp	60 bp - 7 kb	7 - 10 kb	> 10 kb	
TAE	~50%	70-80%	60-70%	< 50%	1.7-7.9
TBE	~40%	60-70%	50-60%	< 40%	1.7-1.9

*经测试, 该试剂盒对于 23 kb 的 DNA 片段回收率在 20%左右。

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 400 mg 凝胶中回收到 70-80% 的目的片段，若切下的胶块 >400 mg，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 ≥ 400 ng。
- ◆ 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 60 mL 无水乙醇(DE-02011)。
- ◆ 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 30 μ L，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。

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完整信息和正确使用方法。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

- ◆ 切好的含目标 DNA 片段的凝胶块。
- ◆ 1.5 mL 或 2 mL 无菌离心管。
- ◆ 台式离心机($\geq 13,400 \times g$)、65°C水浴或金属浴、移液器、涡旋仪等。

自备试剂

- ◆ 无水乙醇

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 PW 含有胍盐：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。
- ◆ 紫外线下，切下含有目标 DNA 片段的凝胶块：
 - ❖ 凝胶块包含所有的目标 DNA 片段；
 - ❖ 尽量将多余的凝胶切除。

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标DNA条带从琼脂糖凝胶中切下(尽量切除多余的凝胶)，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**100 mg**，其体积可视为**100 μ L**，以此类推)。
 - a 若胶浓度 $\leq 2\%$ 时，向胶块中加入**3倍**体积Buffer GE。
 - b 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°C**水浴或者金属浴中**10 min**，或直至胶块完全溶解。期间，每隔2-3 min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0.1 g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200 bp及其以下的目的片段，若回收的目的片段大于200 bp，请跳过该步骤。
5. 将离心柱(DNA-Only Column)放入收集管中，将含有DNA片段的溶胶混合液加入离心柱中，12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$)离心1 min。弃掉收集管中的废液。

注意：离心柱容积为800 μL ，若样品体积大于800 μL 可分批加入。

- 将离心柱放回收集管中，向离心柱中加入**700 μL Buffer WB1**(使用前请检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$)离心1 min，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2-5 min，再进行离心。

- 将离心柱放回收集管中，重复**步骤6**一次。
- 将离心柱放回收集管中，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)空管离心2 min，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。

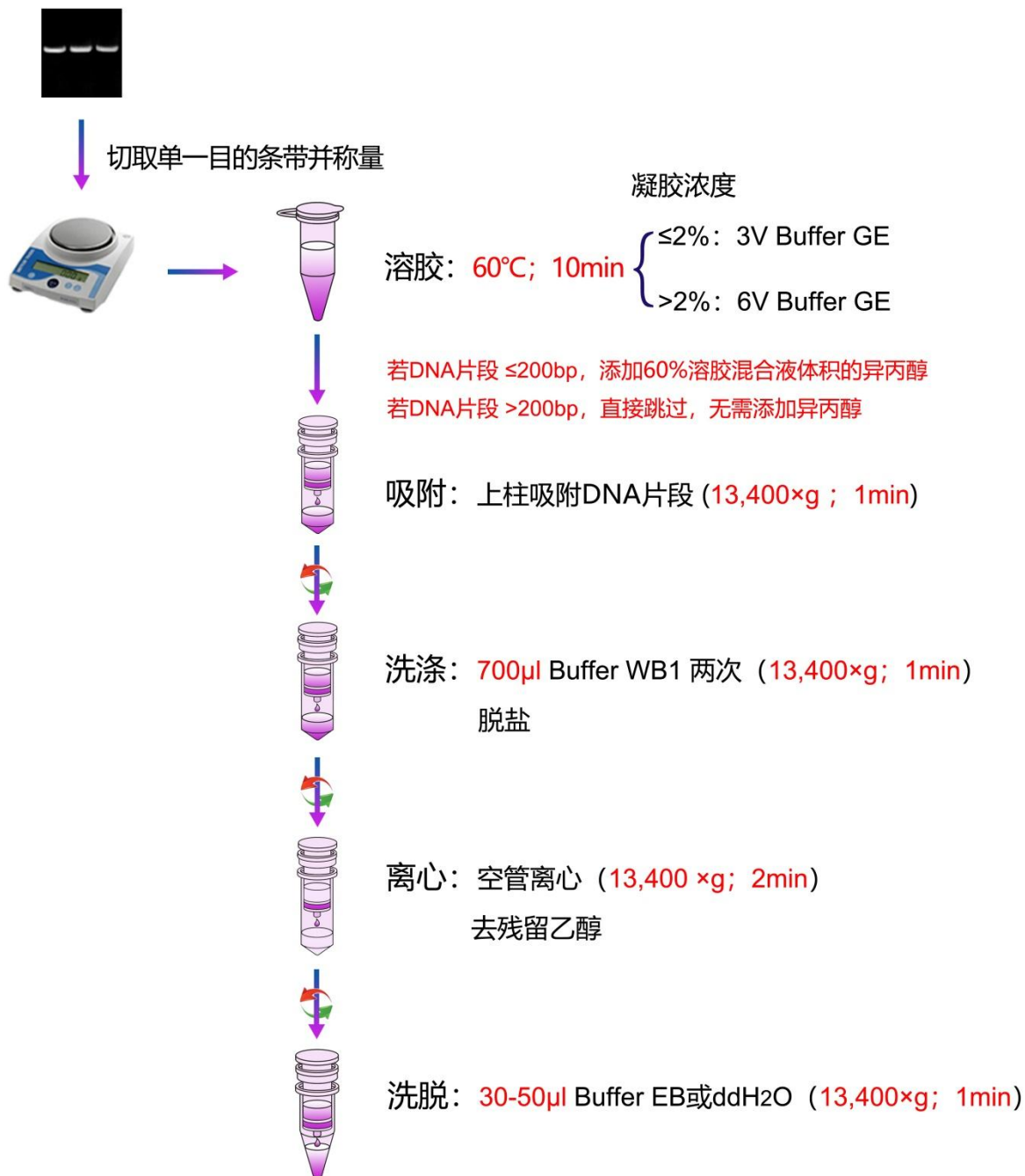
- 将离心柱转移至新的1.5 mL 离心管中，向膜中央悬空滴加**30-50 μL** 已于**65°C**预热的**Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，室温放置2 min，12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$) 离心1 min。

注意：Buffer EB 的体积不应少于 15 μL ，在推荐洗脱体积范围内，适当增加 Buffer EB 体积，可提高 DNA 得率。如果希望提高 DNA 的浓度，可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心 1 min。

DNA 浓度及纯度检测

- ◆ 得到的 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 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 双链 DNA。
- ◆ DNA 的 OD₂₆₀/OD₂₈₀ ≈ 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。

快速操作示意图



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: 028-83360257 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。

可能存在的原因如下:

1. 电泳缓冲液不新鲜。

建议:电泳前,更换新的电泳缓冲液。

2. 切胶的时候没有将目标 DNA 条带切下。

建议:确认切下的凝胶中含有目标 DNA 片段,尽量将所有的目标 DNA 都包含在切下的凝胶中以便获得更高的回收率。

3. 溶胶液(Buffer GE)加入比例不合适。

建议:正确称量切下的凝胶块的重要,严格按照说明书的提示,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 2-3 min 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(>400 mg)。

建议:单个离心柱能最多能从 400 mg 凝胶中回收到 70-80%的目的片段。若切下胶块超过 400 mg,需使用多个离心柱进行回收。

6. Buffer WB1 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到 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 5 min 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，12,000 rpm (~13,400 \times g) 空管离心 2 min 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 2-5 min 再进行洗脱或者以 13,400 rpm (~17,000 \times g) 离心 2 min。

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·凡晶 World's Foregene

成都凡晶生物技术有限公司

电话：028-83360257, 028-83361257

E-mail: info@foregene.com

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

