

Gel / PCR Extraction Kit

琼脂糖凝胶回收 / 产物纯化试剂盒

目录号：A O 3 3 0 5

试剂盒组成

Component	A O 3 3 0 5 (5 0 T)	A O 3 3 0 5 (1 0 0 T)
Buffer GL	5 0 ml	1 0 0 ml
Buffer WB2 (concentrate)	1 3 ml	2 5 ml
Buffer WB2 (concentrate)	(使用前按瓶上标签加入无水乙醇)	(使用前按瓶上标签加入无水乙醇)
Buffer EB	1 0 ml	1 0 ml
Spin Columns AC with Collection Tubes	5 0	1 0 0

保存方法

室温（15 - 30℃）保存。

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

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。

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。通常情况下，1 - 20 μg，100 bp - 5 kb的DNA片段，回收效率可达85%以上。

切胶回收时，紫外照射时间应尽量短，以免对DNA造成损伤。

第一次使用前请先在Buffer WB2瓶加入指定量无水乙醇，充分混匀，并打钩标记，防止重复加入！

Buffer EB中不含有螯合剂EDTA成分，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保pH大于7.5，pH过低影响洗脱效率。

若环境温度低时Buffer GL有结晶析出，可水浴加热重新溶解，摇匀后使用。

标准抽提步骤（以下所有离心步骤均在室温完成）

※ 从琼脂糖凝胶中回收DNA

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）。

向胶块中加入3倍体积的Buffer GL（举例：凝胶重100 mg，其体积可视为100 μ l，则加入300 μ l Buffer GL，以此类推），56℃水浴放置10 min，其间每隔2 - 3 min涡旋混匀一次，直至胶块充分溶解（溶解后溶液应为黄色）。待融化的凝胶溶液降至室温后（高温时吸附柱结合DNA能力弱），接操作步骤2往下做。

注意：1）使用前先检查Buffer GL是否有结晶析出，如果有结晶可在56℃水浴加热重新溶解后使用。2）如果凝胶浓度>2%，应加入6倍体积Buffer GL。3）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 μ l 异丙醇，以提高回收效率。

※ 从PCR产物或酶切反应液中回收DNA

估计PCR反应液或酶切反应液的体积，加入5倍体积的Buffer GL，充分混匀。往下接操作步骤2。

将上一步所得溶液（冷却至室温）加入到吸附柱（Spin Columns AC）中，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 μ l，若样品体积超过750 μ l可分两次加入。

向吸附柱AC中加入600 μ l Buffer WB2（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm离心30 s，弃废液。

重复操作步骤3。

将吸附柱AC放回空收集管中，12,000 rpm离心2 min，弃收集管。

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。

将吸附柱AC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 μ l Buffer EB（EB提前在56℃水浴中预热可增加回收效率），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 μ 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溶液重新加入到吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm离心1 min。