

【产品简介】

本试剂盒提供一个可以从 TBE 或 TAE 电泳缓冲液配置的琼脂糖凝胶中提取高质量 DNA 的简单、快速、有效的技术, 适合从浓度 $\leq 3\%$ 、高、低熔点琼脂糖凝胶中, 回收长度为 60bp~23kb 的 DNA 片段, 小于 100bp DNA 片段回收率为 10~55%, 0.1~10kbDNA 片段回收率可达 80%, 大于 10kb DNA 片段回收率为 20~70%。回收的基因组 DNA 可以应用到克隆, 测序, 限制性酶切等各类下游分子生物学实验。

【产品组成】

GEL/ PCR Purification Kit (GCK-200) 100 次反应。

货号	品名	规格
GCK-200	Balance Buffer	75 mL
	Extraction Buffer	85 mL $\times$ 2
	Wash Buffer	10 mL $\times$ 2 (使用前加入 40 mL 无水乙醇)
	Elution Buffer	20 mL
	Spin Column	100

备注: 使用前需要向 Wash Buffer 瓶中加入 40ml 的无水乙醇, 混匀后使用。

【需要的配套设备和材料】

- 无菌 1.5mL/2.0mL 离心管
- 各种规格移液器和无菌移液器吸头
- 无水乙醇
- 可能需要 3M KAc (pH5.0)
- 旋转振荡器
- 离心机 (最大转速 $>14000g$)

【注意事项】

1. Extraction Buffer 显黄色, 表明其 pH 值 ≤ 7.8 。
2. Wash Buffer 使用前按瓶身标签标明的量 (40mL) 加入无水乙醇, 并将其混匀。
3. 试剂用好后, 请立即盖好盖子。
4. 本试剂盒最适 Elution Buffer 体积为 50 μ L, Elution Buffer 用量可根据客户实验具体情况灵活调整。
5. 操作中可能需要 3M KAc (pH5.0)。

【使用方法】

一、从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段:

1. 用干净、锋利的手术刀, 将含有目的 DNA 片段的琼脂糖凝胶切下, 并放入 1.5 或 2.0 ml 离心管中。
请尽量切去不包含 DNA 片段的凝胶。一般情况下, 电泳的 DNA 上样量 $\geq 50\mu$ L (50 μ L 为最终洗脱体积)。
2. 按 1: 3 的比例 (凝胶质量毫克数: 凝胶液体积微升数) 加入 Extraction Buffer。
例如: 100mg 凝胶应加入 300 μ L Extraction Buffer。对于每份试剂用量, 凝胶质量不能超过 400mg。
3. 于恒温水浴或金属浴中 50 $^{\circ}$ C 温浴, 直到凝胶融化。
一般温浴时间为 10 分钟。温浴过程中每隔 2-3 分钟混匀一次。如果温浴后, 混合液体颜色变紫, 请加入 10 μ L 3M KAc (pH 5.0), 使混合液颜色变回黄色。

二、从 PCR 反应液或酶切反应液中回收 DNA:

1. 将 PCR 反应产物或其它酶促反应物移入 1.5mL 离心管中。
2. 按 PCR 反应产物体积的 3 倍加入 Extraction Buffer, 混合均匀。

三、DNA 纯化:

1. 向 Spin Column 内加 500 μ L Balance Buffer, 于 12, 000g 离心 1 分钟, 并弃去接液管内液体。
2. 将混合液全部转移到 Spin Column 内, 于 6, 000g 离心 1 分钟, 并弃去接液管内液体。
如混合液体积大于 750 μ L 可先转移 750 μ L, 其余的液体待离心弃液后, 再转移。

- 向 Spin Column 内加 500μL Extraction Buffer, 于 12,000g 离心 30~60 秒, 并弃去接液管内液体。
- 向 Spin Column 内加 750μL Wash Buffer, 于 12,000g 离心 30~60 秒, 并弃去接液管内液体。
如果回收的 DNA 片段将用于盐浓度敏感的实验, 请在加入 Wash Buffer 后静置 2~5 分钟, 再离心。
- 再次于 12,000g 离心 1 分钟, 然后将 Spin Column 转移到无菌的 1.5mL 离心管中。
如不进行该步离心, 则无法保证 Spin column 内残液被彻底清除。
- 向 Spin Column 内加 50μL Elution Buffer、水或 TE 溶液, 并于室温静置 3 分钟。
可根据实验的实际需要决定 Elution Buffer 用量。但不得低于 30μL。
- 于 12,000g 离心 1 分钟, 微量离心管内溶液中含有目的 DNA 片段。
回收的 DNA 可直接用于各类下游分子生物学实验, 如果不立即使用, 请保存于 -20℃。

【储存条件】

本试剂盒存于常温 (15~25℃)。所有试剂如果适当保存, 可以稳定保存 18 个月。
本试剂盒可在常温下运输。

【常见问题】

1. 没有回收到 DNA 片段。

如在洗脱后, 发现洗脱液中没有 DNA 片段, 请检查是否按瓶身标签, 在 Wash Buffer 中加入了无水乙醇。

2. 提取率低。

- Extraction Buffer 为酸性缓冲液, 如融胶后, 其 pH 值升高 (混合物颜色变紫) 将影响提取得率。请加入 0.1 倍凝胶体积的 3M 乙酸钾 (pH5.0)。使得混合物颜色重新变回黄色。
- 长时间使用后没有更换的电泳缓冲液, 其 pH 值较高, 将影响 DNA 的吸附。请更换新的电泳缓冲液后, 再进行电泳, 然后切胶。
- 在洗脱前, 将 Elution Buffer 于 30~60℃ 温浴, 可提高提取效率。

3. 吸光度测量结果问题。

吸光度测量的是未知样品与调零标准之间的相对吸光度, 所以请用与洗脱液体相同的液体, 对测量样品进行稀释和调零。

【配套产品】

琼脂糖粉末

货号	名称	规格	厂家
AGR-100	Agarose	100g/瓶	TOROIVD

无缝克隆试剂盒

货号	名称	规格	厂家
FCM-050	TOROIVD® One Step Fusion Cloning Mix	250μL/管	TOROIVD

【联系信息】



天罗诊断科技江苏有限公司

TOROIVD TECHNOLOGY COMPANY LIMITED.

总部地址: 上海宝山区江杨南路 880 号新杨湾科创园 C1 栋

生产地址: 江苏如东珠江路 888 号生命健康产业园 20 号楼

邮箱: market@toroivd.com

网址: www.toroivd.cn