

常见问题

1. 回收率低

- 凝胶未充分溶解: 溶胶时, 50°C 水浴 10 分钟, 其间颠倒混匀数次, 让凝胶充分溶解。
- 凝胶用量过多: 过量的凝胶会降低回收率, 切胶时尽量去除多余的凝胶。
- 溶胶液不足: Buffer GDB 加入量不能低于凝胶重量的 1 倍。处理>2%凝胶时, Buffer GDB 加入量最好控制在 2~3 倍。
- 洗脱不充分: 建议用洗脱液洗脱两次, 以获得最高的回收率。洗脱液必须加入柱子的膜中央。洗脱效率取决于洗脱体积和次数。
- 试剂准备有误: Buffer PW 没有加入乙醇稀释或体积不准确(乙醇浓度需控制在 80%)。

2. 回收后出现杂带

- DNA 变性: 有些 DNA 片段对温度比较敏感, 杂带有可能是单链的 DNA。降低溶胶温度至 37~50°C。降低温度, 可延长溶胶时间至 20~40 分钟让凝胶充分溶解。

3. 盐污染

- A260/230 太低: Buffer GDB 溶液中的盐在 A230 中有较高的吸收峰。使用该产品, A260/230 通常小于 1.0。实验表明, 该产品得到的 DNA 不会影响下游的运用, 包括测序, 连接, 定量 PCR, PCR, 酶切等。

4. 连接不理想

- 乙醇污染: 洗脱 DNA 前, 打开柱子的盖子, 空气干燥 10~15 分钟以彻底去除乙醇。
- 核酸变性: 降低熔胶温度至 37~50°C。降低温度, 可延长溶胶时间至 20~40 分钟让凝胶充分溶解。降低温度能有效减少核酸的脱嘌呤和变性的影响。



EasySC Gel DNA Extraction Kit 琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒 (离心柱型)

产品概述

EasySC Gel DNA Extraction Kit 适合于从各种浓度的琼脂糖凝胶中回收 50bp-10Kbp DNA 片段。此外, 该试剂盒也适合于从 PCR 产物中, 酶促反应液中, 或由各种方法获得的粗制的 DNA(包括基因组 DNA)中回收纯化 DNA。试剂盒采用硅胶柱纯化技术, 可确保在 10-15 分钟完成纯化工作。DNA 回收效率可高达 80%, 纯化的 DNA 可直接用于自动测序, 连接, 酶切, PCR, 标记等。

产品特点

- ❖ 高回收效率 - DNA 回收效率高达 80%;
- ❖ 通用 - 可用于切胶回收, 也可用于 PCR 等酶促反应液中回收 DNA;
- ❖ 快速 - 过柱操作, 只需 10-15 分钟。

适用范围

从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段。

ABP Biosciences Inc

安迪福诺生物科技(武汉)有限公司

地址: 武汉市东湖新技术开发区高新大道666号
光谷生物城生物创新园C2-4栋五楼

电话: 400-066-7718 邮箱: info@abpbio.com

网址: www.abpbio.com www.abpbio.com.cn



试剂盒组分

Kit Component	D104-1 (50 preps)	D104-2 (200 preps)
Buffer GDB	25 mL	100 mL
Buffer PW*	15 mL	50 mL
Elution buffer	15 mL	25 mL
Mini Column	50	200
2 mL Collection Tube	50	200

* Buffer PW 使用前须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

保存条件

本试剂盒所有组份可在室温保存 12 个月。Buffer GDB 放置时可能会有沉淀出来，使用时须加热至 55°C 使沉淀消失。

实验准备

在使用之前，请仔细阅读本说明书，以便熟悉每一步的操作。

1. 按瓶子标签所示，加入适量的无水乙醇至 Buffer PW 中，于室温保存。
2. 准备无核酸和核酸酶污染的 Tip 头、离心管。
3. 所有离心均在室温下进行。
4. 水浴锅温度设至 50~55°C。
5. 使用前观察溶液是否出现沉淀，若有沉淀可在 55°C 水浴中加热溶解并冷却至室温后再使用。

实验步骤

1. 配制合适浓度的琼脂糖凝胶，电泳分离 DNA 片段。当 DNA 片段分离后，把凝胶放置于紫外灯下，快速切下含目的 DNA 片段的凝胶，并尽量去除多余的凝胶。
2. 称取凝胶块的重量，并转移至 1.5 mL 离心管中。按 100 mg 凝胶块相当 100 μ L 体积计算，加入等倍体积 Buffer GDB。50°C 水浴 10 分钟，让凝胶块完全溶解。水浴期间，颠倒混匀 2 次加速溶胶。若回收小于或等于 100bp DNA 片段时，加入 3 倍体积 Buffer GDB，水浴溶胶后，再加入 1 倍体积(凝胶体积)异丙醇混匀后再按第三步进行操作。

3. 短暂离心收集管壁上的液滴。将 DNA Mini Column 套在 2 mL 收集管中，把 ≤ 700 μ L 溶胶液转移至柱子中，12,000 \times g 离心 30~60 秒。
4. (可选: 溶胶液超过 700 μ l) 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。把剩余的溶胶液转移至柱子中，12000 \times g 离心 30~60 秒。
5. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 300 μ L Buffer GDB 至柱子中。静置 1 分钟，12,000 \times g 离心 30~60 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 600 μ L Buffer PW (已用无水乙醇稀释) 至柱子中，12,000 \times g 离心 30~60 秒。
Note: 使用 Buffer PW 之前，必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
7. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 600 μ L Buffer PW (已用无水乙醇稀释) 至柱子中，12,000 \times g 离心 30~60 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。12,000 \times g 离心 2 分钟。
9. 把柱子套在一新的 1.5 mL 离心管中，室温放置 5-10 min，尽量去除膜上的乙醇。在柱子的膜中央加入 15-30 μ L Elution Buffer。室温放置 2 分钟，12,000 \times g 离心 1 分钟。
Note: 若需要获得最高产量，可重复此步骤进行第二次洗脱；回收大于 3KB 以上的片段时，最好把 Elution Buffer 预热至 55°C。
10. 弃去柱子，把 DNA 保存于 -20°C。