



# 小量琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒

## (Gel Mini Purification Kit)

目录号: ZP202 版本: 2014-9-1

### 试剂盒内容:

试剂盒组成	ZP202-01 (50 次)	ZP202-02 (100 次)	ZP202-03 (200 次)
溶胶液	25ml	50 ml	100 ml
漂洗液 W2	15 ml	2×15 ml	2×30 ml
洗脱缓冲液 TE	15ml	15 ml	30 ml
吸附柱	50 个	100 个	200 个
收集管 (2 ml)	50 个	100 个	200 个
说明书	1 份	1 份	1 份

### 选配试剂:

3M 乙酸钠 (pH 5.2) (目录号: ZS108)

### 储存条件:

本试剂盒在室温 (15–25°C) 干燥条件下, 可保存 12 个月; 更长时间的保存可置于 2–8°C。(注意: 当低温贮存时, 使用前应先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, 以平衡溶液温度。)

### 产品简介:

本试剂盒采用独特的离心吸附柱, 能从 TAE 或 TBE 琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段, 满足多种实验需要。溶胶液中含有 pH 指示剂, 可根据颜色来判断溶胶回收是否达到最佳状态。使用本产品可回收 100 bp~8 kb 大小的 DNA 片段, 回收率可达 80%。

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: 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

- 溶胶液中含有 pH 指示剂, 为黄色时, 指示  $\text{pH} \leq 7.5$ 。若实验过程中溶液颜色发生变化, 请使用 5-10 $\mu\text{l}$  3M 乙酸钠 (pH 5.2) 将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。(溶胶液中含有 pH 指示剂, 当  $\text{pH} \leq 7.5$  时溶液的颜色为黄色, 此时 DNA 才能够完美有效的与膜结合, 当 pH 值偏高时溶液的颜色变为桔红色和紫色, 需要进行调整。)
- 使用之前请按照瓶体标签提示在漂洗液 W2 中加入无水乙醇。

## 操作步骤：

1. 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，称取重量。
2. 向胶块中加入 2 倍体积溶胶液（如果凝胶重为 0.1 g，其体积可视为 100  $\mu\text{l}$ 。），55°C 水浴 10 分钟左右，其间不断温和地上下翻转离心管，以确保胶块充分溶解。如果还有未溶的胶块，可再补加一些溶胶液或继续放置几分钟，直到胶块完全溶解（若胶块的体积过大，可事先将胶块切成碎块）。

**注意：**a. 对于回收 <150 bp 的小片段以及高于 1% 的胶应将溶胶液的体积增加到 3 倍以上以提高回收率；

b. 溶胶液的加入比例在 2-8 倍范围对回收效率无影响，但不可以低于 2 倍；推荐 2.5 倍使用。

c. 胶块完全溶解后最好将溶液温度降至室温后再上柱，因为吸附柱在室温时结合 DNA 的能力较强。

d. 凝胶完全溶解后应呈现黄色，即可进行后续操作。如果胶完全溶解后溶液的颜色为桔红色或紫色，请使用 5-10  $\mu\text{l}$  3M 乙酸钠（pH 5.2）将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。

3. 将上一步所得溶液加入一个吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

4. 向吸附柱中加入 600  $\mu\text{l}$  漂洗液 W2（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

**注意：**如果回收的 DNA 是用于盐敏感的实验，例如平末端连接实验或直接测序，建议漂洗液 W2 加入后静置 2 - 5 分钟再离心。

5. 向吸附柱中加入 500  $\mu\text{l}$  漂洗液 W2（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

6. 将吸附柱放入收集管中，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液。将吸附柱置于室温放置数分钟，彻底晾干。

**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。

7. 将吸附柱放入一个干净离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加 30  $\mu\text{l}$ -80  $\mu\text{l}$  的洗脱缓冲液 TE，（如果回收的目的片段 >4 kb，则洗脱缓冲液 TE 应置于 65 - 70°C 水浴预热），室温放置 1 分钟。12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 1 分钟，收集 DNA 溶液。

**注意：**

1. 悬空滴加：枪头尖部放置于吸附柱膜中心上方 1-3mm 处，为避免晃动，可以将枪头中部靠在吸附柱口边缘。
2. 洗脱液体积不应少于 30  $\mu\text{l}$ ，体积过少会影响回收的效率。
3. 洗脱液客户可根据自己的需求配制，建议为 3mM Tris-HCl pH 8.0。DNA 产物应保存在 -20°C，以防 DNA 降解。