

六、常见问题分析及建议处理方法

- 1、回收率低或没条带。
 - 1) 溶胶时胶块没溶完全: 溶胶时, 时间适当延长, 期间振荡混匀几次, 确保溶化完全。
 - 2) 胶块过多: 每管中凝胶应当小于 300mg。
 - 3) Wash buffer 中没有加入无水乙醇: 确保 Wash buffer 中加入无水乙醇。
 - 4) 洗脱液使用不当: 确保使用试剂盒提供的 Wash buffer。
 - 5) 洗脱不充分: 确保足够洗脱时间和 Elution buffer 用前 65°C 预热。
 - 6) 电泳缓冲液 pH 过高: 确保待测样品电泳时使用新鲜缓冲液。
 - 7) 样品过少, 浓度过低: 加大样品用量。
- 2、回收产物无法进行后续实验
 - 1) 乙醇残留: 室温低时, 可适当延长晾干时间, 或放入 37°C 温箱中晾干。
 - 2) 盐残留: 确保洗涤液用量和洗涤两次, 每次离心将液体离尽。

高效 DNA 凝胶回收试剂盒

GV-High-Efficiency Agarose Gel DNA Purification kit

Cat #: GV-GX-50/GV-GX-100

产品规格: 50T/100T

保存与运输: 收到试剂盒, 请按照标签要求与相应条件保存。

本试剂盒利用高离液盐法溶胶, 采用硅膜离心柱特异吸附 DNA, 可以从各种浓度的 TAE 或 TBE 琼脂糖凝胶上回收的 100bp ~ 10kb DNA 片段, 不含盐、蛋白质、RNA 等杂质。500bp 以上片段, 回收率 80% 以上, 200bp ~ 500bp 回收率 70% 以上, 100bp ~ 200bp 回收率 60%。可回收单链、双链 DNA 片段以及环状质粒 DNA。

本试剂盒采用一种独特的平衡液处理吸附膜, 该试剂能够激活硅基质膜, 改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性, 专一吸附 DNA 的作用, 同时还可消除高温 / 潮湿或其他不良环境因素对吸附柱造成的影响。

使用本试剂盒回收的 DNA 适用于各种常规分子生物学操作, 包括酶切、连接、克隆、PCR 和测序等下游实验。

一、试剂盒组成、储存、稳定性

成分	50T	100T	注意事项
Buffer GA	60 ml	120ml	
Buffer BL	12ml	24ml	
Wash buffer	13 ml	13×2ml	Add 52ml ethanol
Elution buffer	4 ml	8ml	For DNA Elute
Spin Columns	50	100	Max adsorption up to 20 µg each
1.5ml Tubes	50	100	
Handbook	1		

Buffer GA: 溶胶液。室温密闭贮存。若出现沉淀，应于 65℃ 温浴溶解并冷却至室温后再使用。

Buffer BL: 平衡液，平衡液的加入能够激活硅基质膜，改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性，专一吸附 DNA 的作用，同时还可消除高温 / 潮湿或其他不良环境因素对吸附柱造成的影响。

Wash buffer: 去盐液。使用前，第一次使用前根据瓶上指定的体积加入无水乙醇，混合均匀，室温密闭贮存。

Elution buffer: 10mM Tris-HCl, pH8.0。室温密闭贮存。

二、注意事项

- 1、DNA 呈酸性，建议在 10mM Tris-HCl, pH8.0 洗脱液中保存
- 2、用平衡液处理过的柱子最好当天使用，放置时间过长会影响效果
- 3、Buffer GA, Buffer BL 含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套和眼镜，避免沾染皮肤、眼睛和衣服，谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛时，要立即用大量清水或生理盐水冲洗，必要时寻求医疗咨询
- 4、将洗脱液加热至 65℃，有利于提高洗脱效率

三、产品特点

- 1、简单快速：仅需几个简单流程，十几分钟快速完成回收。
- 2、可视方便：Buffer GA 含黄色指示剂，方便确定结合最佳条件。
- 3、高效可靠：硅膜离心柱结合能力高达 20ug，保证可靠高效回收。

四、操作步骤

- 1、离心柱预处理：在离心柱中加入 200 μl Buffer BL，12000rpm 离心 1min，去掉收集管中的平衡液。
- 2、使用干净锋利的手术刀切取含 DNA 片段的琼脂糖凝胶胶块于干净的离心管中，按重量比 1:3（即 100mg 胶加入 300 μl 溶胶液）加入 Buffer GA。
注：尽量将多余的琼脂糖凝胶切去，DNA 片段小于 300 bp 时，可将溶胶液按 1:5 加。

- 3、55℃ ~60℃ 水浴 10 min，其间每隔 2 ~ 3min 混匀助溶 1 次，胶完全溶化即可。
注：溶胶完全后检查溶液颜色是否为黄色。如颜色为粉红色，加 10ul 3M NaAc pH5.0 调整颜色为黄色。
- 4、加 1.5 倍胶体积异丙醇（即 100mg 胶加入 150 μl 异丙醇）于步骤 2 中溶化完全的含凝胶溶液，混匀后，吸取溶液于离心柱中，静置 2min，12,000rpm 离心 30s，倒掉液体。
注：若一次加不完，可分次离心上柱，
- 5、加入 500 μl Wash buffer（Wash buffer 第一次使用前使用前加入 52 ml 无水乙醇）于离心柱中，静置 2min，12,000rpm 离心 30s，弃液体。
- 6、重复步骤 5 一次。
- 7、12,000 rpm 再次离心 1 min，甩干剩余液体以除去残余酒精。
- 8、将离心柱置于新的离心管中，室温敞盖离心管盖放置 5 ~ 10 min，使乙醇挥发殆尽。
- 9、向离心柱中央加入 20 ~ 60 μl Elution buffer（Elution buffer 用前 50℃ 预热），静置 2 min。
- 10、12,000 rpm 离心 2 min，管底溶液即为所需 DNA。将 DNA 贮存于 -20℃

五、纯化效果检测：

- 1、回收后得到的产物可用琼脂糖凝胶电泳检测和紫外分光光度计检测浓度和纯度。
- 2、DNA 在 260nm 处有吸收峰，OD260 为 1 时大概相当于 50 μg/ml 双链 DNA，40 μg/ml 单链 DNA。
- 3、核酸浓度（μg/ml）=OD260×50× 稀释倍数。
- 4、OD260/OD280 的值应该为 1.7 ~ 2.0。