

## 胶回收试剂盒简明说明书 (BW-DC3511)

Ver: 2507

### 产品简介

本试剂盒用于从琼脂糖凝胶中快速、可靠地回收 DNA，从 PCR、RFLP、磷酸化、标记、连接、杂交及其他酶促反应中纯化 DNA 片段。100 bp 至 20 kb 的 DNA 片段可通过 Mini Column 可纯化得到，回收率在 50~90%。

### 产品构成

| Catalog#               | -00  | -01   | -02     | -03     | 04       |
|------------------------|------|-------|---------|---------|----------|
| Preps                  | 10   | 50    | 100     | 250     | 500      |
| Mini Columns           | 10   | 50    | 100     | 250     | 500      |
| 2 mL Collection Tubes  | 10   | 50    | 100     | 250     | 500      |
| 1.5 mL Microfuge Tubes | 10   | 50    | 100     | 250     | 500      |
| Buffer GBL             | 6 mL | 30 mL | 60 mL   | 150 mL  | 300 mL   |
| Buffer KB              | 6 mL | 30 mL | 60 mL   | 150 mL  | 300 mL   |
| Buffer GC-A            | 5 mL | 25 mL | 50 mL   | 120 mL  | 240mL    |
| Buffer GC-B            | 5 mL | 25 mL | 50 mL   | 120 mL  | 240mL    |
| DNA Wash Buffer*       | 6 mL | 30 mL | 2x30 mL | 3x60 mL | 2x120 mL |
| Buffer C1              | 1 mL | 1 mL  | 1.5 mL  | 3 mL    | 6 mL     |
| Elution Buffer         | 5 mL | 10 mL | 15 mL   | 30 mL   | 60mL     |
| User Manual            | 1    | 1     | 1       | 1       | 1        |

### 要点

- DNA Wash Buffer: 使用前将 14 mL (BW-DC3511-00) 或 70 mL (BW-DC3511-01) 或 70 mL (BW-DC3511-02) 或 140 mL (BW-DC3511-03) 96-100%乙醇加入至每个 DNA Wash Buffer 瓶内, 280 mL (BW-DC3511-04) 96-100%乙醇加入至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。
- 100 mg 的凝胶相当于 100  $\mu$ L 体积。
- Buffer GC-A/B: 低温易产生沉淀, 使用前请于 37°C 水浴加热至沉淀完全溶解。
- Buffer GC-A/B 含有核酸结合 pH 指示剂, pH<7.5 时, Buffer GC-A/B 显示黄色, 利于 DNA 的结合; pH>7.5 时, Buffer GC-A/B 显示紫色, 在此环境下, 不利于 DNA 结合, 每个反应需额外加入 10ul Buffer C1, 此时由紫色变为黄色, 可继续进行后续实验。
- 65°C 预热 Elution Buffer 或 ddH<sub>2</sub>O。
- 所有操作步骤 (包括离心) 均在室温下进行。

### 产品贮存及稳定性

本试剂盒自生产之日起可保存 12 个月。所有试剂及用品可保存于室温 (15-25°C)。

### 实验前需准备的材料

- 小型台式离心机和 1.5 mL 离心管
- 55~65°C 水浴锅
- 负压装置

- 96~100%乙醇
- 异丙醇 (对于 200 bp 以下或 4000bp 片段的回收)

### 操作步骤 (离心法)

1. 柱平衡步骤: 向 **Mini Column** (自带 **2 mL Collection Tube**) 加入 **500  $\mu$ L Buffer GBL**, 12000 rpm 离心 1 min, 弃滤液, 将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube** (请使用当天处理过的柱子)。
2. **琼脂糖凝胶产物纯化**: 从凝胶上割下带有目的片段的凝胶到一个 1.5 mL 或 2.0 mL 离心管 (称量估算凝胶的体积, 确保加入不少于 1 倍体积的 Buffer GC-A), 加入 **1 倍体积的 Buffer GC-A**, 置于 55~60°C 水浴 8~10 min, 期间颠倒混匀几次, 直至凝胶完全融化, 冷却离心管至室温。

注: 100mg 凝胶相当于 100ul;

纯化片段大于 4000bp 或小于 200bp 需加入 1 体积的异丙醇;

对于大于 2% 的凝胶, 加入 2 体积的 GC-A Buffer;

每个 **Mini Column** 最大承载 400mg 凝胶, 对于大于 400mg 凝胶的样本需增加一个 **Mini Column** 柱子;

**PCR 产物纯化**: 加入 **2 倍体积** 的 **Buffer GC-B** (如 100  $\mu$ L 的 PCR 反应液, 加入 200  $\mu$ L Buffer GC-B), 混合均匀, 瞬时离心, 将溶液收集到管底。

注: 纯化 200 bp 以下的 PCR 产物, 加入 5 倍体积的 Buffer GC-B 到 1 倍体积的 PCR 反应液。100 mg 的凝胶相当于 100  $\mu$ L。

200 bp 以下或 4000bp 以上片段的纯化, 请加入 1 倍体积的异丙醇。

3. 转移上述混合液 (每次不超过 **700  $\mu$ L**) 至一个 **Mini Column**,

12,000 rpm 离心 1 min，弃滤液，将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube**。重复此步骤至所有样品通过。

4. 可选：**琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 **500 µL Buffer KB**，12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube**。

5. 加入 **700 µL DNA Wash Buffer**，12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube**。

6. 重复步骤 5。

**注**：确保使用前按要求加入乙醇至 **DNA Wash Buffer** 瓶内。

7. 可选：**琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 **700 µL DNA Wash Buffer**，12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube**。

**注**：如果纯化的 DNA 产物用于对盐敏感的应用(如测序、平末端连接)，建议采用此步骤。

8. 打开 **Mini Column** 盖子，12,000 rpm 离心 2 min，去除残留的乙醇。

**注**：开盖离心更有利于乙醇的去除。

9. 转移 **Mini Column** 至一个 **1.5 mL Microfuge Tube**，在膜中央加入 **30~100 µL Elution Buffer**（**65°C 预热**）或 ddH<sub>2</sub>O (pH 在 7.0~8.5)，静置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min 洗脱 DNA。

**可选**：将洗脱下来的液体重新上柱，二次洗脱。

**注**：将 **Elution Buffer** 或 ddH<sub>2</sub>O 置于 **65°C 预热**，或加入洗脱液后将 **Mini Column** 置于 **65°C 静置 5 min** 再进行洗脱，将会显著提高 DNA 回收率。

**注**：对于 8 kb 以上的片段，加入洗脱液后将 **Mini Column** 置于 **65°C 静置 5 min**。

**注**：第一次洗脱通常得到 60~70%左右的 DNA。二次洗脱有利于回收剩

下 20%的 DNA。

## 操作步骤（负压/离心法）

1. 根据制造商指南安装负压设备，将 **Mini Column** 连接到负压装置上。

2. 柱平衡步骤：向 **Mini Column** 加入 **500 µL Buffer GBL**，打开负压装置 1 min。

3. 按照离心法中步骤 2 操作。瞬时离心以收集所有液体至管底。

4. 小心转移混合液至 **Mini Column** 中，打开负压装置，允许液体通过柱子。

5. 可选：**琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 **500 µL Buffer KB**，打开负压装置 1 min。

6. 加入 **700 µL DNA Wash Buffer**，打开负压装置 1 min。

7. 重复步骤 6。

8. 可选：**琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 **700 µL DNA Wash Buffer**，打开负压装置 1 min。

**注**：如果纯化的 DNA 产物用于对盐敏感的应用(如测序、平末端连接)，建议采用此步骤。

9. 打开负压装置，干燥空柱子 5 min。

10. 将 **Mini Column** 转移至一个 **1.5 mL Microfuge Tube**，在膜中央加入 **30~100 µL Elution Buffer** 或 ddH<sub>2</sub>O，静置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min 洗脱 DNA。

**注**：将 **Elution Buffer** 或 ddH<sub>2</sub>O 置于 **65°C 预热**，或加入洗脱液后将 **Mini Column** 置于 **65°C 静置 5 min** 再进行洗脱，将会显著提高 DNA 回收率。

**注意**：第一次洗脱通常得到 60~70%左右的 DNA。二次洗脱有利于回收剩下 20%的 DNA。

## 常见问题解答

| 问题            | 可能原因                              | 建议   |
|---------------|-----------------------------------|--|
| 低得率           | Buffer GC-A/B 加入量不够               | 根据要求加入一定量的 Buffer GC-A/B。                          |
|               | 琼脂糖凝胶没有彻底融化                       | 确保水浴温度在 55~60°C，若有必要增大 Buffer GC-A 的量。             |
|               | 电泳缓冲液重复利用导致 pH 偏高                 | 使用新鲜的电泳缓冲液。  |
|               | 片段小于 200 bp                       | 按要求加入异丙醇。  |
|               | 片段大于 10 kb                        | 加入洗脱液后，将柱子于 65°C 预热 15 min 再洗脱。                    |
| 没有收到 DNA      | 忘记在 <b>DNA Wash Buffer</b> 瓶内加入乙醇 | 使用前按要求加入乙醇至 <b>DNA Wash Buffer</b> 瓶内。             |
| 点样时 DNA 飘出点样孔 | 漂洗后乙醇没有完全去除干净                     | <b>DNA Wash Buffer</b> 漂洗后，开盖空离柱子，离心 1~3 min，重复一次。 |
| 柱子堵塞          | 琼脂糖凝胶没有完全融化                       | 上柱前确保凝胶于 55~60°C 融化。                               |

杭州倍沃医学科技有限公司

BIOMIGA（中国）

[www.beiwobiomedical.com](http://www.beiwobiomedical.com)

400-115-2855

[sales@beiwobiomedical.com](mailto:sales@beiwobiomedical.com)