

## 琼脂糖凝胶回收试剂盒

### E.Z.N.A.<sup>®</sup> Gel Extraction Kit

货号	D2500-00	D2500-01	D2500-02	D2500-03
反应次数	5 次	100 次	200 次	500 次
HiBind <sup>®</sup> DNA Mini Columns	5 个	100 个	200 个	500 个
2 mL Collection Tubes	5 个	100 个	200 个	500 个
XP2 Binding Buffer	5 mL	80 mL	150 mL	2 x 180 mL
SPW Buffer	5 mL	2 x 25 mL	3 x 25 mL	3 x 50 mL
Elution Buffer	5 mL	15 mL	30 mL	80 mL
User Manual	✓	✓	✓	✓

#### ★ 保存方式及稳定性

- 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
- 当贮存温度较低时，XP2 Binding Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
- 本试剂盒仅限科学研究使用。

#### ★ 实验前准备

按照下表提示，使用【无水乙醇】对 SPW Buffer 进行稀释，稀释后室温保存。

货号	无水乙醇 加入量
D2500-00	20 mL
D2500-01	100 mL (每瓶)
D2500-02	100 mL (每瓶)
D2500-03	200 mL (每瓶)

## ★ 用户自备仪器及耗材:

- ✓ 离心速度可达 13,000xg 的离心机、涡旋仪、温度可达 60°C 的孵育装置
- ✓ 无菌无酶的 1.5ml 离心管、
- ✓ 无水乙醇
- ✓ (可选) 5M 醋酸钠 pH5.2、无菌水

## ★ 回收操作步骤 —— 离心方案

1. 琼脂糖凝胶电泳分离 DNA 片段, 任何类型或等级的琼脂糖都可以使用; 强烈建议您使用新鲜的 TAE /TBE Buffer 作为电泳缓冲液。不要重复使用电泳缓冲液, 因其 pH 的升高易导致产量降低;
2. 当所需 DNA 片段在琼脂糖凝胶上完全分离时, 使用一把干净锋利的手术刀小心地切下所需 DNA 片段, 尽量切除多余的胶体;
3. 将带有目的片段的凝胶块转移至 1.5mL 离心管, 称重得出凝胶块的重量;
4. 往离心管中加入与胶体等体积的 XP2 Binding Buffer;  
**# 注意:**按照 1g/mL 来计算需要添加的溶胶液 XP2 Binding Buffer 体积; 例如: 凝胶薄片的重量为 0.3g, 则需要加入 0.3mL 的溶胶液 XP2 Binding Buffer。
5. 置于 50-60°C 孵育 7 分钟或至凝胶完全融化, 每 2-3 分钟振荡或涡旋混合物。如胶块较大或胶浓度较高, 可适当延长孵育时间至胶体完全融化;  
**# 重要提醒:**在凝胶完全溶解之后, 注意凝胶-XP2 Binding Buffer 混合物的 pH 值。如果其 pH 值大于 8 的话, DNA 的产量将大大减少。观察混合物的颜色, 如果是橙红色, 则要加入 5 $\mu$ L 5 M 醋酸钠 (pH 为 5.2), 以调低其 pH 值。经过这一调节, 该混合物的颜色将恢复为正常的黄色/浅黄色。
6. 把 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 套在 2mL 收集管内;
7. 转移不超过 700 $\mu$ L DNA 溶胶液全部转移至 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 中, 室温下 10,000 x g 离心 1 分钟, 弃滤液, 将柱子套回 2mL 收集管内;
8. 如果 DNA 溶胶液的体积超过 700 $\mu$ L, 则重复步骤 7 至所有 DNA 溶胶液全部通过结合柱;
9. 弃滤液, 将 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 套回 2mL 收集管内。加 300 $\mu$ L

XP2 Binding Buffer 至结合柱中，室温下，最大速度 ( $\geq 13,000$ ) 离心 1 分钟，弃滤液；

10. 将 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 套回 2mL 收集管内。加 700 $\mu$ L SPW Buffer (已加无水乙醇正确稀释) 至结合柱中。室温下 10,000xg 离心 1 分钟，弃滤液；

# **可选**：如下游实验对盐离子含量较为敏感，可重复步骤 10 进行第二遍 SPW Buffer 洗涤；

11. 将 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 套回 2mL 收集管内，室温下  $\geq 13,000$ xg 离心 2 分钟以甩干结合柱基质残余的液体；
12. 将 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 装在一个干净的 1.5mL 离心管上，加入 15~30 $\mu$ L 到结合柱基质上，室温放置 2 分钟，13,000xg 离心 1 分钟以洗脱 DNA。

# **注意**：第一次洗脱可以洗出 70-80% 的结合 DNA。如有必要可进行二次洗脱。

- 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱 (可增加产量，但会导致浓度降低)
- 将第一次洗脱出的 Elution Buffer 重新加至结合柱内进行二次洗脱 (可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积)。

## ★ 产品信息卡



**更多详情，请扫描左方二维码获取原文说明书**

中文翻译仅供辅助阅读



**常见问题合集及操作注意事项**

请扫描左方二维码获取



**中国总代理：广州飞扬生物工程有限公司**

技术支持：020-32051125

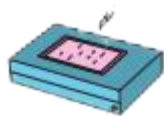
企业 QQ：800848200 (人工客服在线)

中文网站：**omegabiotek.com.cn**

如需查询代理商名录，请关注“飞扬生物”微信号获取

## ★ 提取步骤示意图

### 离心操作流程



从琼脂糖凝胶上割下所需目的片段



加入溶胶液溶解



转移液体至结合柱内



洗涤



干燥



洗脱

### 真空抽滤操作流程



从琼脂糖凝胶上割下所需目的片段



加入溶胶液溶解



把结合柱插到抽滤盒上  
转移液体至结合柱内



负压抽滤  
让液体通过结合柱



干燥



洗脱