



ELK Biotechnology
For research use only.

Gel DNA Purification Kit

凝胶回收试剂盒说明书

货号	规格	储藏/有效期
EP006-50T	50T	室温/一年
EP006-200T	200T	室温/一年

产品介绍

本试剂盒可从各种浓度琼脂糖凝胶中回收得到不含盐或低盐浓度、不含蛋白质、RNA 等杂质的高纯度 DNA 片段。200 bp-10 kbp 的 DNA 片段回收率 80%以上，并可回收单链、双链 DNA 片段以及环状质粒 DNA。回收得到的片段 DNA 均可直接进行酶切、酶连、测序反应。

试剂盒组成

成分	EP006-50T	EP006-200T	Storage
Solution G	60 ml	240 ml	RT
Wash Buffer	60 ml	240 ml	RT
Elution Buffer	5 ml	20 ml	RT
吸附柱 G 柱	50 套	200 套	RT
说明书	1 份	1 份	RT

一、使用前准备

Solution G: 开盖后如果长时间未使用，请检查 Solution G 的 pH，确保 $\text{pH} \leq 7.5$ 。

Wash Buffer: 使用前请将无水乙醇加入 Wash Buffer（试剂瓶上有标签提示）中。

水浴加热: 溶胶步骤需要在 55 °C 水浴环境下 5-10 min，建议提前预热水浴锅。

二、操作步骤

1. 接用一个干净、锋利的切胶刀片切取凝胶电泳检测后的目的条带，将其装入 2 ml 无色透明的 EP 管中。
注：注意提前称量 EP 管的质量，因为下一步需要通过凝胶质量粗略估计凝胶体积以及溶胶缓冲液的用量
2. 称量凝胶和 EP 管的质量并计算凝胶块单独的质量，精确到 0.01 g。
注：因为凝胶电泳通常含有有毒染料，因此强烈建议您戴手套操作，在称量的时候垫一张称量纸，以免对实验环境造成污染，影响您自身安全。



ELK Biotechnology

For research use only.

3. 根据凝胶块的质量，按照1 g=1000 μ l的比例，加入3倍体积的溶胶缓冲液Solution G（例如0.1 g凝胶则需要加入300 μ l凝胶缓冲液）（凝胶浓度大于2 %时加入6倍溶胶缓冲液），55 $^{\circ}$ C水浴溶胶5-10 min，直至凝胶完全溶解。

注：可以通过晃动EP管来观察折光率以判断凝胶是否完全溶解，也可以高速瞬时离心来判断凝胶是否完全溶解，凝胶完全溶解够方能进行下一步实验，否则会造成回收率严重下降。

4. **（选做）** 将装有溶解完全凝胶的EP管转至高速离心机，4 $^{\circ}$ C下10,000 \times g离心30 sec，以甩下吸附在离心管壁的残留溶液，并使混合物迅速降温以增加膜的吸附性，最大限度提高回收率。
5. 将上一步得到的完全溶解凝胶液将添加至本试剂盒提供的吸附柱G柱中（如一次无法加完，可分多次加入），室温下10,000 \times g离心1 min。弃掉收集管中的废液。如有需要，此步骤可以重复一次，对低浓度的核酸回收率有较明显提高。
6. 吸附柱G柱中加入300 μ l Solution G，室温下10,000 \times g离心1 min，弃废液。
7. 吸附柱G柱中加入600 μ l Wash Buffer，室温下13,000 \times g离心1 min，弃废液。
8. 重复步骤7。
9. 室温下13,000 \times g离心2 min以彻底甩下Wash Buffer的残留。
10. 取出吸附柱G柱并放入新的EP管中，将吸附柱G柱开盖室温下静置2 min，如有需要可放在空调风口吹1-2 min，以彻底去除残留的乙醇。
11. 向吸附柱G柱正中间加入15-50 μ l（建议用量为30 μ l）Elution Buffer或ddH₂O（55 $^{\circ}$ C水浴后的溶解液溶解效果更好），静置5 min待吸附的DNA片段完全溶解，室温下13,000 \times g离心2 min即得到回收的DNA片段。

注：回收得到的 DNA可直接用于基因克隆、扩增、测序、酶切等。

三、DNA 浓度及纯度

$$\text{DNA浓度}(\mu\text{g/ml}) = \text{OD}_{260} \times 50 \times \text{稀释倍数}, \text{OD}_{260}/\text{OD}_{280} \text{约为} 1.8\text{-}2.0.$$

四、注意事项

本试剂盒只适用于琼脂糖凝胶电泳产物回收，不适用于聚丙烯酰胺凝胶回收。试剂盒中各成分均有一定的挥发性，请使用后后立即盖紧瓶盖，以防试剂污染或者挥发而造成效果降低。



ELK Biotechnology
For research use only.

五、常见问题及解答

常见问题	可能原因	建议
回收率低 或没条带	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。
	胶块过大	每管中凝胶应当小于 300 mg。
	Wash Buffer 中没有加入无水乙醇	确保 Wash Buffer 中加入无水乙醇。
	洗脱液使用不当	确保使用试剂盒提供的 Wash Buffer 。
	洗脱不充分	确保足够洗脱时间，Elution Buffer 用前可 55 °C 预热，直接测序或者酶切建议用去离子水溶解。
	电泳缓冲液 pH 过高	确保待测样品电泳时使用新鲜缓冲液。
	样品过少，浓度过低	加大样品用量。
	胶块过薄	增加制胶厚度，确保 DNA 电泳时不会泳到池液中。
回收产物 无法进行 后续实验	乙醇残留	室温低时，可适当延长晾干时间，或放在空调前吹干残留的乙醇。
	盐残留	确保洗涤液用量和洗涤次数，每次离心将液体离尽。