

**FastPure® Gel DNA
Extraction Mini Kit**

DC301



使用说明书

Version 22.1

目录 Contents

01/产品概述	02
02/产品组分	02
03/保存条件	02
04/适用范围	02
05/自备材料	02
06/注意事项	03
07/实验原理与流程概要	03
08/实验流程	04
08-1/凝胶回收方案	04
08-2/PCR反应液回收方案	04
09/常见问题与解决方案	05

*所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

01/产品概述

本试剂盒采用优化的缓冲体系和硅胶柱纯化技术，可从各种浓度的TAE或TBE琼脂糖凝胶中回收70 bp - 20 kb的DNA片段，溶胶后转入DNA吸附柱在高盐条件下直接离心即可专一性吸附DNA，去除其它杂质。此外，本试剂盒又可直接从PCR产物、酶促反应体系或其它各种方法获得的DNA粗制品中纯化DNA片段，同时除去蛋白质、其它有机化合物、无机盐离子及寡核苷酸引物等杂质。可确保在10 - 15 min完成纯化工作。纯化的DNA可直接用于连接、转化、酶切、体外转录、PCR、测序、微注射等分子生物学研究。

02/产品组分

组分	DC301-01 (100 rxns)
Buffer GDP	80 ml
Buffer GW	2 × 20 ml
Elution Buffer	20 ml
FastPure DNA Mini Columns-G	100 个
Collection Tubes 2 ml	100 个

Buffer GDP：DNA结合液；

Buffer GW：漂洗液，使用前按瓶上指定体积加入无水乙醇；

Elution Buffer：洗脱缓冲液；

FastPure DNA Mini Columns-G：DNA吸附柱；

Collection Tubes 2 ml：滤液收集管。

03/保存条件

15 ~ 25℃保存，室温运输。

04/适用范围

适用于各种浓度的TAE或TBE琼脂糖凝胶；PCR产物、酶促反应体系或其它各种方法获得的DNA粗制品。回收片段范围为70 bp - 20 kb。

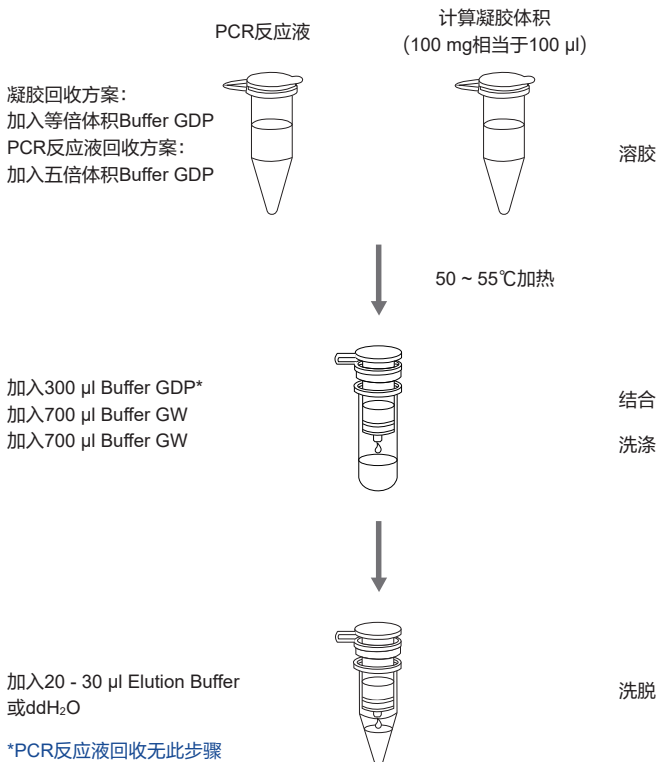
05/自备材料

1.5 ml灭菌离心管，无水乙醇，异丙醇(回收片段≤100 bp时添加1倍凝胶体积异丙醇)，水浴锅。

06/注意事项

1. 首次使用前按Buffer GW试剂瓶标签所示，加入80 ml的无水乙醇稀释Buffer GW，于室温保存。
2. 若低温储存时，Buffer GDP容易产生沉淀，使用前可室温放置一段时间，必要时可于37℃水浴锅预热至沉淀完全溶解，混匀后再使用。
3. 提前将水浴锅温度设为50 ~ 55℃。
4. 在步骤1中，将凝胶切成细小的碎块可大大缩短凝胶溶化时间从而提高回收率(线型DNA长时间暴露在高温条件下易于水解)。勿将含DNA的凝胶长时间地暴露在紫外灯下，减少紫外线对DNA造成的损伤。
5. 在步骤2中凝胶必须完全溶化，否则将严重影响DNA回收率。
6. 将Elution Buffer或ddH₂O加热至55℃，有利于提高DNA洗脱效率。DNA分子呈酸性，建议在2.5 mM Tris-HCl, pH 7.0 - 8.5洗脱液中保存。

07/实验原理与流程概要



08/实验流程

首次使用前按Buffer GW试剂瓶标签所示，加入80 ml的无水乙醇稀释Buffer GW，于室温保存。

08-1/凝胶回收方案

1. DNA电泳结束后，在紫外灯下快速切下含目的DNA片段的凝胶，建议用纸巾吸尽凝胶表面液体并切碎，并尽量去除多余的凝胶。称取凝胶重量(去除空管重量)，100 mg凝胶等同于100 μ l 体积，作为一个凝胶体积。
2. 加入等体积Buffer GDP。50 ~ 55 $^{\circ}$ C水浴7 - 10 min，根据凝胶大小适当调整时间，确保凝胶块完全溶解。水浴期间颠倒混匀2次加速溶胶。
▲ Buffer GDP加入1 - 3倍体积不影响DNA回收率。若回收小于或等于100 bp DNA片段时，加入3倍体积 Buffer GDP，水浴溶胶后，再加入1倍凝胶体积异丙醇，混匀后再按第3步进行操作。
3. 短暂离心收集管壁上的液滴。将FastPure DNA Mini Columns-G吸附柱置于Collection Tubes 2 ml收集管中，把 ≤ 700 μ l溶胶液转移至吸附柱中，12,000 rpm (13,800 \times g)离心30 - 60 sec。若溶胶体积 > 700 μ l，把吸附柱置回收集中，剩余的溶胶液转移至吸附柱中，12,000 rpm (13,800 \times g)离心30 - 60 sec。
4. 弃滤液，把吸附柱置于收集管中。加入300 μ l Buffer GDP至吸附柱中。静置1 min。12,000 rpm (13,800 \times g)离心30 - 60 sec。
5. 弃滤液，把吸附柱置于收集管中。加入700 μ l Buffer GW(已加入无水乙醇)至吸附柱中。12,000 rpm (13,800 \times g)离心30 - 60 sec。
▲ 请沿吸附柱壁四周加入Buffer GW，或加入Buffer GW后盖盖颠倒混匀2 - 3次有助于完全冲洗沾附于管壁上的盐份。
6. 重复步骤5。
▲ 两次使用Buffer GW冲洗能确保盐份被完全清除，消除对后续实验的影响。
7. 弃滤液，把吸附柱置回收集中。12,000 rpm (13,800 \times g)离心2 min。
8. 将吸附柱置于在1.5 ml灭菌的离心管中，加入20 - 30 μ l Elution Buffer至吸附柱中央，放置2 min。12,000 rpm (13,800 \times g)离心1 min。弃去吸附柱，把DNA保存于-20 $^{\circ}$ C。
▲ 若需要获得最高产量，建议将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，重复第8步进行二次洗脱。回收大于3 kb的片段时，建议将Elution Buffer预热至55 $^{\circ}$ C以提升回收效率。

08-2/PCR反应液回收方案

该方案适合从PCR产物，酶促反应液，或粗制的DNA(包括基因组DNA)中回收纯化DNA。该方案可高效地去除各种核苷酸，引物，引物二聚体，盐分子，酶等杂质。

1. 短暂离心PCR产物，酶促反应液，或粗制DNA产物(包括基因组DNA)。用移液枪测量其体积，并转移至灭菌的1.5 ml或2 ml离心管中。若样品体积小于100 μ l，用灭菌水补充至100 μ l。高浓度的基因组DNA最好用灭菌水稀释至300 μ l，以提高回收效率。

2. 加入5倍体积的Buffer GDP，颠倒或涡旋混匀。若需回收小于100 bp DNA片段，需再加入1.5倍体积(样品+Buffer GDP的体积)的无水乙醇。
3. 将吸附柱套在收集管中。把 $\leq 700 \mu\text{l}$ 溶胶液转移至吸附柱中。12,000 rpm ($13,800 \times g$)离心30 - 60 sec。若混合液体积 $> 700 \mu\text{l}$ ，把吸附柱置回收集管中，剩余的溶液转移至吸附柱中，12,000 rpm ($13,800 \times g$)离心30 - 60 sec。
4. 后续步骤按实验08-1的第5 - 8步进行操作。

09/常见问题与解决方案

◇ DNA回收率低

琼脂糖凝胶未完全溶化：尽可能去除不含目的片段的琼脂糖凝胶，溶胶过程间隔性的颠倒混匀促进凝胶充分溶化，仔细检查确保无固体琼脂糖凝胶残留。

回收片段过小：小于或等于100 bp片段时，加入1倍体积的异丙醇。

试剂准备有误：Buffer GW需加入乙醇稀释或乙醇体积不准确(乙醇浓度需控制在80%)。

洗脱效率低：将Elution Buffer预热至 55°C ，并重复二次洗脱。

◇ 下游结果不理想

盐污染：确保用Buffer GW洗脱两次；此外沿吸附柱管壁四周加入Buffer GW，或加入Buffer GW后盖盖颠倒混匀2 - 3次有助于完全冲洗沾附于管壁上的盐份。

琼脂糖凝胶残留：尽可能去除不含目的片段的琼脂糖凝胶，溶胶过程间隔性的颠倒混匀促进凝胶充分溶化，仔细检查确保无固体琼脂糖凝胶残留。

洗脱产物中有ssDNA：将洗脱产物 95°C 加热2 min，缓慢冷却至室温，使单链DNA重新退火即可。



Vazyme Biotech Co., Ltd.

Web: www.vazyme.com

Tel: +86-400-600-9335

Sales: sales@vazyme.com

Support: support@vazyme.com

