

# D2500 Gel Extraction Kit

## 中文简易说明

√实验前请按说明书正确稀释 SPW Buffer.

➤ 使用【无水乙醇】对 SPW Buffer 进行稀释，稀释后室温保存。

货号	加入量
D2500-00/D2501-00	20mL
D2500-01/D2501-01	100mL (每瓶)
D2500-02/D2501-02	100mL (每瓶)

➤ XP2 Binding Buffer 为黄色时表示  $\text{pH} \leq 7.5$ 。

### 胶回收步骤：

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。我们强烈的建议您使用新鲜的 TAE Buffer 作为电泳缓冲液。不要重复使用电泳缓冲液，因为会因其 pH 的升高而减少产量。新鲜的 TBE Buffer 也可以用，但只能得到较低的产量。

2. 当所需 DNA 片段完全分离时，转移凝胶至紫外灯上，尽可能快地把所需的 DNA 片段切下来。注：切胶时尽量把多余的凝胶切去，DNA 暴露在紫外灯下不能超过 30s。

3. 将带有目的片段的凝胶块转移至 1.5mL 离心管(离心管已经称重了)中，称重得出凝胶块的重量。近似地确定其体积。假设其密度为 1g/mL (几乎所有 DNA 凝胶的密度都可以近似为 1g/mL)，于是凝胶块的体积便可通过如下方法得到：凝胶薄片的重量为 0.2g，则其体积为 0.2 mL。加入等体积的 XP2 Binding Buffer，于 50-60°C 水浴中温浴 7min 或至凝胶完全融化，每 2-3 min 振荡或涡旋混合物。

重要提醒：在凝胶完全溶解之后，注意凝胶-XP2 Binding Buffer 混和物的 pH 值。

如果其 pH 值大于 8 的话，DNA 的产量将大大减少。观察混和物的颜色，如果是橙色或红色，则要加入 5 $\mu$ l 浓度为 5 M，pH 为 5.2 的醋酸钠，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浅黄色。

4. 取一个 HiBind® DNA Mini 结合柱装在一个 2mL 收集管内 (已备好)。

5. 将第三步获得的 DNA/熔胶液全部转移至 HiBind® DNA Mini 结合柱中。室温下 10,000 x g 离心 1min。弃收集管中的滤液，将柱子套回 2mL 收集管内收集管。

6. 如果 DNA/凝胶溶液的体积超过 700 $\mu$ l，一次只能转移 700 $\mu$ l 至 HiBind® DNA Mini 结合柱中，余下的可继续重复第 5 步至所有的溶液都经过 HiBind® DNA Mini 结合柱。每一个 HiBind® DNA Mini 结合柱都有一个极限为 25 $\mu$ g DNA 的吸附能力。如果预期产量较大，则把样品分别加到合适数目的 HiBind® DNA Mini 结合柱中。

7. 弃收集管中的滤液，将 HiBind® DNA Mini 结合柱套回 2mL 收集管内收集管。转移 300 $\mu$ l XP2 Binding Buffer 至柱子中，室温下，最大速度 ( $\geq 13,000$ ) 离心 1min，弃

滤液；

8. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套回 2mL 收集管内收集管。转移 700µl SPW Buffer (已用无水乙醇稀释的)至 HiBind® DNA Mini 结合柱中。室温下 10,000xg 离心 1min,

弃滤液；

9. 重复步骤 8。

10. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱套回 2mL 收集管内收集管。室温下  $\geq 13,000xg$  离心 2 min 以甩干 HiBind® DNA Mini 结合柱基质残余的液体。

11. 将 HiBind® DNA Mini 结合柱装在一个干净的 1.5mL 离心管上, 加入 15~30µl (具体取决于预期的终产物浓度) 的 Elution Buffer(或 TE Buffer)到 HiBind® DNA Mini 结合柱的基质上, 室温放置 1min, 13,000xg 离心 1min 以洗脱 DNA。第一次洗脱可以洗出 70-80%的结合 DNA。如果再洗脱一次的话, 可以把残余的 DNA 洗脱出来, 不过那样的浓度就会较低。

中文翻译仅供辅助阅读, 详情请以英文说明书为准