



# StarPrep DNA Gel Extraction Kit

## StarPrep DNA 纯化/胶回收试剂盒

版本号: V230401

货号: D205

保存: 常温

运输: 常温

货号	规格
D205-01	50 rxn
D205-04	200 rxn

### 【产品概述】

本试剂盒采用独特的离心吸附柱,既能从 TAE 或 TBE 琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段,又能用于直接纯化 PCR 产物,满足多种实验需要。其离心吸附柱可最大吸附 20 µg DNA 片段量,可回收 100 bp-10 kb 大小的 DNA 片段,回收率可达 50-90%。整个操作可在 10-15 min 内完成,快速、简便。回收后的 DNA 可以直接用于酶切、连接、测序、标记、杂交和体外转录等多种分子生物学实验。

### 【产品特点】

1. 高效:对引物二聚体的清除率在 70%以上。
2. 样本多样性:可从 TAE 或 TBE 琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段,又能用于直接纯化 PCR 产物。
3. 应用范围广泛:回收后的 DNA 可以直接用于酶切、连接、测序、标记、杂交和体外转录等多种分子生物学实验。

### 【产品组分】

组分货号	组分名称	D205-01	D205-04	注意事项
ZD2000	Buffer BL	30 ml	120 ml	使用当天平衡液处理过的吸附柱
ZD2004	Buffer MB	35 ml	80 ml	
ZD2202	Buffer MW	8 ml×2	20 ml×3	初次使用前请按瓶标说明加入 5 倍体积无水乙醇
ZD2007	Buffer EB	5 ml	20 ml	
ZD2203	Spin Columns with Collection Tubes-CA	50 套	200 套	常温密闭干燥保存
ZD2009	1.5ml Centrifuge Tubes	50 个	200 个	常温密闭干燥保存

### 【保存条件】

常温保存,保质期 24 个月。

### 【注意事项】

1. 用户需自行准备的材料:无水乙醇,异丙醇,水浴锅,切胶设备,台式离心机,1.5 ml 无菌离心管。
2. 初次使用前按 Buffer MW 试剂瓶标签所示,加入 5 倍 Buffer MW 体积的无水乙醇,在试剂瓶上做标记。

### 【操作步骤】

1. 向离心吸附柱中加入 500 µl Buffer BL,静置 1 min,室温下 1,2000 rpm 离心 1 min,弃收集管中的废液,将离心吸附柱重新放回收集管中。(请使用当天处理过的吸附柱)
2. 样本处理

#### **A: 凝胶回收**

- 1) 电泳结束后,在紫外灯下迅速切出目的片段。将胶块装入 1.5 ml 无菌离心管(自备)中,称取重量,计算胶重。每管内的胶块不应超过 700 mg。

注:尽量去除胶块边缘不含 DNA 的部分,并将胶块尽可能地切碎。

- 2) 按每 1 mg 凝胶加入 1 µl Buffer MB 的比例(1:1)加入 Buffer MB,混匀后置于 55°C 水浴,确保胶块完全溶解(约 5-10 min)。水浴期间可颠倒混匀几次,以便加速溶胶。

注:回收 100 bp 以下、10 kb 以上的 DNA 片段或使用 ≥2% 琼脂糖凝胶时,应按 1:3 的比例加入 Buffer MB;溶解 ≥5 kb 的 DNA 片段时,混合动作要轻柔,以免 DNA 断裂。如果回收率较低,可在胶充分溶解后检测 pH 值,如 pH 值大于 7.5,可向含有 DNA 的胶溶液中加入 10-30 µl 3 M 醋酸钠(pH 5.2)将 pH 值调到 5-7 之间。为增加小片段的回收效率,当回收的 DNA 片段小于 400 bp 时,可以加



入 1 个凝胶体积的异丙醇。

- 3) 待凝胶溶液冷却至室温后，转移到离心吸附柱内（带有收集管），静置 1 min，室温下 12,000 rpm 离心 1 min，弃除收集管中的废液，将离心吸附柱重新插回收集管中。

注：不可低温离心，否则降低吸附效率；将收集管中的液体重新过柱离心，可提高回收效率；当凝胶溶液的体积超过离心吸附柱的最大容量 950  $\mu$ l 时，可将凝胶溶液分批转移到同一吸附柱内，分次离心。

### B: PCR 反应液回收

- 1) 将 DNA 样品装入 1.5 ml 无菌离心管（自备）中，按每 1  $\mu$ l DNA 样品加入 1  $\mu$ l Buffer MB 的比例（1:1）加入 Buffer MB，混匀后转移到离心吸附柱内（带有收集管），室温静置 1 min，室温下 12,000 rpm 离心 1 min，弃除收集管中的废液，将离心吸附柱重新插回收集管中。

注：离心吸附柱每次最多可离心 950  $\mu$ l 溶液，如溶液体积大于 950  $\mu$ l，可分批转移到同一吸附柱内，分次离心；若样品体积低于 50  $\mu$ l，可用灭菌蒸馏水或 Buffer EB 补足至 50  $\mu$ l，再加入 50  $\mu$ l 的 Buffer MB。为增加小片段的回收效率，当回收的 DNA 片段小于 400 bp 时，可加入 1:1 体积的异丙醇。

3. 加入 600  $\mu$ l Buffer MW（已加入无水乙醇）于离心吸附柱中，室温下 12,000 rpm 离心 30 s，弃除收集管中的废液，将离心吸附柱重新插回收集管中。
4. 重复操作步骤 3 一次。
5. 室温下 12,000 rpm 空离 2 min，弃除收集管。
6. 将吸附柱置于 1.5ml Centrifuge Tubes 中，加入 50-100  $\mu$ l Buffer EB 至吸附柱中央，室温静置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min，弃去吸附柱，获得的 DNA 片段可直接用于后续反应或于 -20 $^{\circ}$ C 长期保存。

注：为提高回收片段浓度，建议离心收集后可将洗脱液再次加入离心吸附柱中重复洗脱一次。回收大于 10 kb 的片段时，建议将 Buffer EB 预热至 55 $^{\circ}$ C 以提升回收效率。

### 【补充说明】

1. StarPrep DNA 纯化/胶回收试剂盒的回收效率

线性 DNA 片段大小	50 bp	100-200 bp	0.2-5 kb	5-10 kb
回收效率	30-50%	50-70%	70-90%	50-70%

注：实际回收率可能因 DNA 片段的大小、初始浓度不同而有差异。

2. DNA 纯化/胶回收常见问题分析及其解决方案

问题	可能原因	解决方案
回收率低	Buffer MB 使用量不当	按每 1 mg 凝胶或每 1 $\mu$ l DNA 溶液加入 1 $\mu$ l 膜结合液的比例（1:1）加入 Buffer MB
	溶胶不完全	尽量将胶切成小块，加入膜结合溶液后于 55-65 $^{\circ}$ C 加热助溶，确保溶胶彻底
	Buffer MW 未添加乙醇	第一次使用时按比例添加乙醇，并在试剂瓶上做标记
	Buffer EB 体积过小	使用 30 $\mu$ l 以上 Buffer EB，加至硅胶膜中央，静置 1 min，使膜完全浸润后再离心
回收产物测序结果不佳	用量太低	提高测序反应使用的 DNA 量；如果回收产物浓度过低，可通过乙醇沉淀浓缩产物
	用量过高，干扰测序结果	降低 DNA 用量，必要时用 Buffer EB 或灭菌双蒸水进行稀释
	紫外线下暴露时间过长	切胶动作要快，尽量减少紫外线照射的时间，以减少紫外线对 DNA 的损伤
电泳上样时漂出上样孔	Buffer MW 去除不彻底，胶回收产物中残留有乙醇	确保洗涤步骤中洗涤缓冲液去除彻底
回收产物电泳条带不锐利	DNA 分子断裂	切胶、混合等操作尽量小心，特别是大片段，应避免 DNA 因机械损伤而断裂
	其他 DNA 分子污染	使用新配制的琼脂糖凝胶和电泳缓冲液，刀片应保持清洁，以避免 DNA 交叉污染
	DNA 分子降解	切下来的胶块如不能及时回收，应于 4 $^{\circ}$ C 保存，避免 DNA 降解
克隆效率低	回收过程中有外切酶污染，导致 DNA 片段末端序列缺失	用新鲜配制的胶和电泳缓冲液进行电泳；胶回收保证无菌操作
	感受态细胞的效率差	确保感受态制备和保存方法正确

### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下，本公司对此产品所承担的责任，仅限于此产品的价值本身。