

D2500 Gel Extraction Kit

胶回收 常见问题及排查方法

1. 实验前, SPW Wash Buffer 必须按照说明书加入【无水乙醇】稀释备用。请开盖闻气味确认是否已加入醇类稀释。稀释错误或未稀释会导致 DNA 无法挂柱结合, 致提取失败; 也可自行配制 80%乙醇替代 SPW Wash Buffer 提取, 以排除洗液稀释错误。
2. 检查溶胶是否由于低温出现了沉淀或浑浊的情况, 如有沉淀出现务必在实验前使用 37°C 水浴至沉淀完全溶解 (变澄清) 后, 再使用。
3. 电泳缓冲液需新鲜配制, 电泳缓冲液反复使用后的 pH 会升高, 不常更换会导致回收率下降。
4. 提高模板上样量, 可帮助提高胶回收的产量。
5. 切胶时, 需尽可能将多余的胶切除, 把胶 (目的条带) 切成小块, 以增大与溶胶液的接触面积, 冬天室温较低, 可适当延长溶胶时间直至胶块完全溶解。
6. 可尝试增加 Binding Buffer 的用量, 如原加入体积为 300 μ l, 可增加至 400 μ l, 此操作可提高柱子的捕获 DNA 效率。
7. 在溶胶后, 可混入 1/3 溶胶液体积的异丙醇 (如 0.3g 的胶, 加入 300 μ l 的 Binding Buffer, 在溶胶后可混入 100 μ l 异丙醇), 混匀后过柱, 能提高柱子捕获 DNA 的能力。
8. 溶胶温度需严格控制在 50-60°C 之间, 温度过低, 可能会使溶胶不充分, 温度过高, 可能会造成条带的损失。
9. 洗脱时可将 Elution Buffer 在 65°C 预热后再加入, 建议按照说明书进行第二次洗脱。洗脱方法: 将第一次洗脱的 Elution Buffer 重新吸回 HiBind[®] DNA Mini Column, 室温等待 2-3min, 再次离心。
10. 配置 3M NaOH 活化柱子, 具体使用步骤:
 - 1) 取一个新的 HiBind[®] DNA Mini Column 套入到 2mL 收集管中, 吸取 200 μ l 3M NaOH 平衡缓冲液至柱子中;
 - 2) 室温放置 3-5min;
 - 3) 室温下, 12,000xg 离心 2min;
 - 4) 倒弃收集管中的滤液, 把 HiBind[®] DNA Mini Column 重新套回到 2mL 收集管中; 加入 700 μ l 灭菌水至柱子中;
 - 5) 室温下, 按上述条件离心;
 - 6) 倒弃收集管的滤液, 把 HiBind[®] DNA Mini Column 重新套回到 2mL 收集管中。这就是平衡好的柱子, 然后按试剂盒说明书进行操作。该流程处理过的柱子, 可室温放置 1-2 周。

11. 对于酶切产物：如果是将螺旋状或环状的 DNA 分子切成线性的 DNA 分子，或切除的只是 DNA 分子上的几个碱基，其分子的大小基本不变，可以不跑胶区分片段，直接加入 Binding Buffer 混匀后转移过柱。

胶回收盐度问题：

目前在市场上最常用的胶回收系统是异硫氰酸胍溶胶系统，该系统常常会引起 A230 读数偏高（即 A260/A230 读数偏低），其峰图曲线可能会呈现一个下坡的斜线，但并非是杂质残留引起的，这不会影响 DNA 的回收，也不影响后续的实验。

针对该问题，建议在做胶回收时，在加入 SPW Wash Buffer 后，让其在柱内停留 1 分钟，降低离心速度离心进行实验或另外增加一遍 SPW Wash Buffer（可能增加洗涤试剂的用量或自行配置 80%乙醇替代），可帮助缓解问题。

如按照上述步骤仍无法排查问题，请提供单位名称及试剂盒条形码（即盒外标签 Lot 开头数字字母组合）核验正品货源，添加技术支持 QQ: 800848200 获取更多信息。