

琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒

目录号：09160202

产品组成

试剂盒组成	09160202-10	09160202-50	09160202-100
溶胶液GL	10ml	50ml	100ml
漂洗液WB	4ml	20ml	40ml
洗脱液EB	1ml	1ml	1ml
吸附柱A2	10个	50个	100个
说明书	1份	1份	1份

储存条件：

该试剂盒置于室温（15-25℃）干燥条件下，可保存 12 个月，更长时间的保存可置于 2-8℃。2-8℃ 保存条件下，若溶液产生沉淀，使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间，必要时可在 37℃ 水浴中预热 10 min，以溶解沉淀。

产品简介：

本试剂盒采用可以高效、专一结合 DNA 的硅基质材料和独特的缓冲液系统，从 TAE 或 TBE 琼脂糖凝胶上回收 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。可回收 100 bp-30 kb 大小的片段，回收率可达 80% 以上，每个离心吸附柱每次可吸附的 DNA 量为 20μg。使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

产品特点

快速：整个操作过程只需十几分钟，节省时间。

多样：可以回收单链、双链 DNA 片段以及环状质粒 DNA。

高效：独特的离心柱和精心配制的缓冲液保证每次最大量回收到高纯度目的 DNA

操作步骤 A (离心法):

1.使用前, 请按下表准确加入98-100%的乙醇。

	09160202-10	09160202-50	09160202-100
漂洗液 WB	4 ml	20 ml	40 ml
乙醇	12 ml	60 ml	120 ml

1. 将单一的目的 DNA 条带从琼脂糖凝胶中切下 (尽量切除多余部分) 放入干净的离心管中, 称取重量。

2. 向胶块中加入 3 倍体积溶胶液 GL (如果凝胶重为 0.1 g, 其体积可视为 100 μ l, 则加入 300 μ l GL 溶液), 65 $^{\circ}$ C 水浴放置, 其间不断温和地上下翻转离心管, 以确保胶块充分溶解。如果还有未溶的胶块, 可继续放置几分钟或再补加一些溶胶液, 直至胶块完全溶解 (若胶块的体积过大, 可事先将胶块切成碎块)。

注意: 对于回收 <300 bp 的小片段, 可在加入 GL 完全溶胶后再加入 1/2 胶块体积的异丙醇以提高回收率; 胶块完全溶解后最好将溶液温度降至室温再上柱, 因为吸附柱在室温时结合 DNA 的能力较强。

3. 将上一步所得溶液加入到吸附柱 A2 中, 室温放置 2 min, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30-60 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱 A2 放回 2ml 收集管。

注: 吸附柱容积为 800 μ l, 若样品体积大于 800 μ l 可分批加入。

4. (选用) 向吸附柱 A2 中加入 300 μ l 溶胶液 GL, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30-60 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱 A2 放回 2ml 收集管。

注: 如果出现胶浓度过高, 洗脱后的产物有凝胶, 可参考使用。

5. 向吸附柱 A2 中加入 600 μ l 漂洗液 WB (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30-60 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱 A2 放回 2ml 收集管。

注: 如果回收的 DNA 是用于盐敏感的实验, 例如平末端连接实验或直接测序, 建议漂洗液 WB 加入后静置 2-5 min 再离心。

6. 重复操作步骤 5。

7、将吸附柱 A2 放回 2ml 收集管，12,000 rpm (~13,400×g)离心 2 min，尽量除去漂洗液 WB。将吸附柱 A2 置于室温放置数分钟，彻底地晾干，以防止残留的漂洗液 WB 影响下一步的实验。

8、将吸附柱 A2 放入新的 1.5 ml 离心管（自备）中，向吸附膜中间位置悬空滴加 10-50 μl 洗脱液 EB，室温放置 2 min。12,000 rpm (~13,400×g)离心 2 min 收集 DNA 溶液。

注意：洗脱液的体积不应少于 30 μl，体积过少会影响回收的效率。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若后续做测序，需使用 ddH₂O 做洗脱液，并保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在-20℃，以防 DNA 降解。DNA 也可以用缓冲液(10 mM Tris-Cl, pH8.0) 洗脱。为了提高 DNA 的回收量，可将离心得到的溶液重新加回离心吸附柱中，室温放置 2 min，12,000 rpm(~13,400×g)离心 2 min，将 DNA 溶液收集到离心管中。

操作步骤 B (负压法)

步骤1-3同离心法。

4. 将吸附柱A2连到负压装置（如真空抽滤盒）上，将第3步获得的溶液转移到吸附柱A2中，开启并调节负压至 500-800 毫米汞柱，缓慢吸走液体。
5. 向吸附柱A2中加入600 μ l漂洗液WB（使用前请检查是否已加入乙醇），开启负压吸走管中液体。再重复此步骤1次。

之后步骤同离心法 6-7 步。

注意事项：

第一次使用本试剂盒前，请通读注意事项，以确保您的实验顺利成功

1. 电泳时最好使用新的电泳缓冲液，以免影响电泳和回收效果。
2. 如下一步实验要求较高，则应尽量使用 TAE 电泳缓冲液。
3. 切胶时，紫外照射时间应尽量短，以免对 DNA 造成损伤。
4. 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 μ l 3 M 醋酸钠（pH5.2）将 pH 值调到 5-7 之间。
5. 回收<100 bp 及>10 kb 的 DNA 片段时，应加大溶胶液的体积，延长吸附和洗脱的时间。
6. 使用前请加入指定量的无水乙醇。
7. 所有实验都在室温条件下进行。
8. 洗脱时，推荐加热 EB 到 65 $^{\circ}$ C 使用，提高洗脱效率。

流程图：

