

## 琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒说明书

货号：AC11004

规格：50T/100T

保存：常温干燥保存，复检期为一年。

试剂盒内容：

试剂盒组成	50T	100T
溶胶液	50ml	100ml
漂洗液	15ml	15ml×2
洗脱液	15ml	30ml
吸附柱	50 个	100 个
收集管	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

### 产品说明：

本试剂盒采用可以高效、专一结合的 DNA 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、其他有机化合物、无机盐离子及寡核苷酸引物等杂质。可回收 100bp-10kb 大小的片段，回收率大于 80%（小于 100bp 和大于 100kb 的 DNA 片段回收率为 30-50%）。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、连接和转化等试验。

注意事项：在使用本试剂盒前请阅读此注意事项。

1. 电泳前最好更换成新的电泳缓冲液，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. 回收小于 100bp 和大于 100kb 的 DNA 片段时，应加大溶胶液的体积，延长吸附和洗脱的时间。
5. 回收率与初始 DNA 量和洗脱体积有关，初始量越少、洗脱体积越小，回收率越低。
6. 如非指明，所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

### 操作步骤：（使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶体上的标签。）

1、琼脂糖凝胶电泳后，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（如果凝胶重为 0.1g，其体积可视为 100ul，则加入 300ul 溶胶液），50-55℃水浴放置 10min，期间不断温和地上下翻转离心管，以确保胶块充分溶解。

注意：溶胶时，如果溶胶液变为红色（正常情况下为淡黄色），可向含有 DNA 的胶溶液中加入 10-30ul 3M 醋酸钠（pH5.2）将胶溶液调为淡黄色，否则将会影响 DNA 与吸附柱的结合，影响回收效率。

3、将上一步所得溶液加入一个吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12000rpm 离心 30-60 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

注意：胶块完全溶解后最好将胶溶液温度降至室温再上柱，因为吸附柱在较高温度时结合 DNA 的能力较弱。

4、向吸附柱中加入 600ul 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。

5、向吸附柱中加入 600ul 漂洗液，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。

6、12000rpm 离心 2min，尽量除去漂洗液。将吸附柱敞口置于室温或 50℃温箱放置数分钟，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，防止漂洗液中的乙醇影响后续的实验。

7、将吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中央悬空滴加适量经 65℃水浴预热的洗脱液，室温放置 2min，12000rpm 离心 1min。

注意：1)、为了增加回收效率，可将得到的洗脱液重新加入吸附柱中，12000rpm 再次离心 1min。

2)、洗脱缓冲液体积不应少于 30ul，体积过小影响回收效率。

3)、洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响，若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 之间。

8、DNA 产物-20℃保存。