

琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒 使用说明书

产品编号：DR511-100T

保存温度：室温，可保存 1 年。

产品内容：

Components	DR511-100T (100 次)
吸附柱及离心管 (2mL)	100 支
Gel-lysis (溶胶液)	100 mL
Wash Buffer (洗涤液)	25 mL (使用前加入 100ml 无水乙醇)
TE Buffer	10mL
说明书	1 份

产品说明：

本试剂盒适用于从琼脂糖凝胶电泳中回收 **100bp-50kb** 大小 DNA 片段。其原理是利用溶胶液融化凝胶，然后使用特殊材质制成的吸附柱高效特异的吸附 DNA 片段，再用 TE Buffer 或灭菌去离子水洗脱 DNA 片段。一般可在 **30 分钟** 内完成操作。本试剂盒的吸附柱的最大吸附量可达 **40 µg**，DNA 回收效率高达 **85%** 以上；电泳凝胶不必使用低熔点的琼脂糖；回收的 DNA 片段纯度较高，可直接用后续的各种酶促反应、DNA 连接、DNA 测序等。

操作步骤：

1. 将琼脂糖凝胶电泳后的单一目的片段切出，放入 1.5 ml 灭菌离心管中，加入约 3 倍凝胶量的溶胶液（**体积比，0.1 g 凝胶视为 100 µl**），65°C 加热 5-10 分钟使胶块完全融化。
2. 所得液体（**降至室温**）加入吸附柱中，室温静置 2 分钟（**特别重要**），12,000 转/分 离心 30 秒，弃去离心管中液体。

3. 向吸附柱中加入 500-600 μ l 洗涤液，12,000 转/分 离心 30 秒，弃去离心管中液体。重复此步骤一次。
4. 再于 12,000 转/分 离心 3-5 分钟，或置于 50°C 烘箱彻底烘干。将吸附柱转移至 1.5 ml 离心管中。
5. 加入预热 65°C-100°C TE Buffer 或灭菌去离子水 (pH 值 7.5-8.0) 30-50 μ l 静置 2 分钟，12,000 转/分 离心 2 分钟，离心管内的液体即含有目的 DNA 片段。

使用中注意事项:

1. 切胶时尽量减小胶块的体积，胶块过大会影响 DNA 片段回收的效率；切碎胶块有利于凝胶的融化。
2. 胶块完全溶解所需时间因凝胶的浓度、大小不同而不等，凝胶浓度大于 2%，适当增加溶胶液的量。
3. **步骤 4 务必保证彻底清除吸附柱中的残液。**
4. 步骤 5 根据回收产物的量，建议适当多加 TE Buffer 或灭菌去离子水；保证去离子水 pH 值 7.5-8.0。
5. 为提高回收量，可将步骤 5 离心所得的溶液重新加入吸附柱中，静置 2 分钟，再次离心 2 分钟。
6. DNA 产物应保存在 -20°C，以防降解。

DNA 浓度及纯度检测:

可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度和纯度。DNA 在 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰，OD₂₆₀ 值为 1 相当于 50 μ g/ml 双链 DNA，40 μ g/ml 单链 DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7-1.9，如用去离子水洗脱，比值会偏低，但不表示纯度低。