



Creativity & Innovation

琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒 使用说明书

广州艾基生物技术有限公司

琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒

【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20 μ g。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。

【产品组成】

试剂盒组成	保存	K210-S	K210-L
溶胶液GSB	室温	100ml	250ml
漂洗液WB	室温	40ml	2×60ml
洗脱液EB	室温	4ml	10ml
吸附柱C2	室温	100个	300个
2ml收集管	室温	100个	300个
说明书	室温	1份	1份

【保存条件】

该试剂盒置于室温（15-25 $^{\circ}$ C）干燥条件下，可保存12个月，更长时间的保存可置于2-8 $^{\circ}$ C。2-8 $^{\circ}$ C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 $^{\circ}$ C水浴中预热10 min，以溶解沉淀。

琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒

【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。

	K210-S	K210-L
漂洗液 WB	40ml	2×60ml
乙醇	120ml	2×180ml

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。（若使用Axygen 产品1.5ml的离心管，管子的重量大约为1.1g）

2. 向胶块中加入3倍体积溶胶液GSB（如果凝胶重为0.1 g，其体积可视为100 μ l，则加入300 μ l GSB溶液），65°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GSB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C2中（吸附柱C2放入2ml收集管），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C2放回2ml收集管。

注意：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. 向吸附柱C2中加入300 μ l GSB溶液，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C2放回2ml收集管。

5. 向吸附柱C2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C2放回2ml收集管。

注意：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Wash Buffer加入后静置2-5 min再离心。

6. 重复操作步骤5。

琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒

7.将吸附柱C2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C2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C2放入新的1.5 ml Collection Tube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C2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C2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C2中加入300 μl GSB溶液，开启负压吸走管中液体。

6.向吸附柱C2中加入600 μl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。

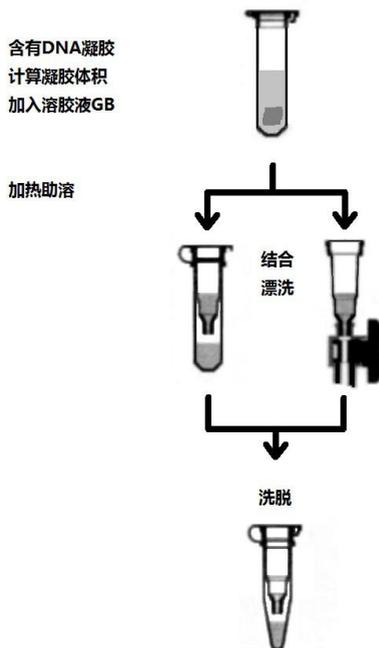
琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒

【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10-30 μl 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°C使用，提高洗脱效率。

【流程图】





广州艾基生物技术有限公司



广州国际生物岛螺旋三路12号三期四栋301

020-89053723

www.igebio.com