

A&DReco 凝胶 DNA 回收试剂盒说明书

产品组成

A&DReco 凝胶 DNA 回收试剂盒 Cat. No.	5 次样品 A-2001005	50 次制备 A-2001050	250 次制备 A-2001250
核酸纯化柱	5 个	50 个	50 个×5
2 ml 离心管	5 个	50 个	50 个×5
1.5 ml 离心管	5 个	50 个	50 个×5
Buffer G	3 ml	30 ml	150 ml
Buffer WS	3 ml	30 ml	150 ml
Buffer WG（浓缩液）	2.4 ml	24 ml	72 ml ×2
Buffer TE	0.5 ml	5 ml	25 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品储存与有效期

产品如果储存于室温（15~25℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: tech@aderr.com 电话：010-57225208。

产品介绍

本试剂盒采用了柱纯化的原理，适合从多至 400mg 琼脂糖凝胶中回收 DNA（70bp-10kb），回收率为 70~85%。溶胶试剂为不含碘化钠的温和溶解液，确保回收的 DNA 保持片断完整性和高生物学活性，回收的 DNA 可直接用于连接、体外转录、PCR 扩增、测序、微注射等分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5ml 离心管、移液器及吸头
3. 一次性手套、纸巾及防护用品
4. 台式小量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）

使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
- 2) 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WG 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。
- 3) 将水浴锅的温度设置为 50℃。
- 4) 可能需要使用 3 M 醋酸钠（pH 5.0）及异丙醇。

操作步骤

1) 在紫外灯下将含有 DNA 片段的琼脂糖凝胶切下，转移到一个自备的 1.5 ml 离心管中。

* 尽量减少多余的凝胶体积，可缩短溶胶时间。

2) 称量切下的凝胶重量，加入 3 倍体积的 Buffer G（每 1mg 凝胶换算为 1 μ l 凝胶体积）。

* 比如 100mg 凝胶应加入 300 μ l BufferG。

* 如果凝胶浓度大于 2%，应加入 6 倍体积的 BufferG。

3) 将装有凝胶的离心管 50 $^{\circ}$ C 水浴直至凝胶完全溶解（大约 5-10 分钟）。

* 溶胶的过程中每隔 2-3 分钟翻转一次离心管以帮助凝胶溶解，并观察凝胶是否彻底溶解。

* BufferG 中所添加的染料可帮助观察凝胶是否彻底溶解，同时可指示 pH 值，溶胶时如果溶液呈紫红色，则应加入 10 μ l 3 M 醋酸钠（pH 5.0）使溶液恢复至原来的颜色，否则将影响 DNA 结合到纯化柱上。

4) 加入 1 倍凝胶体积的异丙醇，混合均匀。

* 如果回收的 DNA 片段在 500bp~4kb 之间，可省略本步骤。

* 比如从 100 mg 凝胶中回收 DNA，应加入 100 μ l 异丙醇。

* 如果从大于 2% 的凝胶中回收 DNA，则应加入 2 倍凝胶体积的异丙醇。

5) 将溶胶液转移到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2ml 离心管中），12000 rpm 离心 30 秒。

* 如果溶胶液体积大于 750 μ l（相当于从 250 mg 凝胶中回收 DNA），应分两次离心过柱。

6) 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，加入 500 μ l Buffer WS，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

7) 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，加入 700 μ l Buffer WG，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。重复步骤 7) 一次。

* 确认在 Buffer WG 中已经加入无水乙醇。

* 两次洗涤 Buffer WG 洗涤能更有效地降低纯化柱上盐分的残留，请勿省略。

8) 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的实验效果。

9) 弃 2ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管（试剂盒提供）中，在纯化柱的膜中央加入 25—30 μ l Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒洗脱 DNA。

* 也可用去离子水洗脱 DNA，但应确保所使用的去离子水的 pH 在 7.0-8.5，否则将影响 DNA 的洗脱效率。

10) 弃纯化柱，洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于 -20 $^{\circ}$ C 备用。