

A&DReco 凝胶 DNA 回收试剂盒（10-50kb）说明书

产品组成

A&DReco 凝胶 DNA 回收试剂盒（10-50kb）	5 次样品	50 次制备
Cat. No.	A-2003005	A-2003050
Buffer SI	180 µl	1.6 ml
Buffer G	6 ml	30 ml×2
Buffer WG（浓缩液）	1 ml	8 ml
Buffer TE	0.5 ml	5 ml
说明书	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

本试剂盒适合从多至 400mg 琼脂糖凝胶中回收 DNA（10-50kb），回收率为 60~75%。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、PCR 扩增、测序等分子生物学实验。

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. 台式少量离心机（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）。

操作步骤

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

* 尽量切除多余的凝胶体积。如果凝胶体积较大，将其切成碎块有助于缩短溶胶时间。

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

* 比如 200mg 凝胶应加入 200 μ l BufferG。

3) 漩涡振荡 Buffer SI 使其中的介质全部悬浮起来，加入 30 μ l Buffer SI。

4) 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，溶胶时如果溶液变为紫红色，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 结合到硅胶颗粒上。

5) 12000 rpm 离心 30 秒，小心地用移液器吸弃上清液。

* 注意不要吸走管底的沉淀，沉淀中含有 DNA。

6) 加入 500 μ l Buffer G，盖上管盖，温和地反复翻转离心管直至沉淀完全分散开来。

* 此步骤为了去除残留的微量琼脂糖分子。

* 此步骤不可用漩涡振荡，否则可能导致大片段 DNA 的断裂。

7) 12000 rpm 离心 30 秒，小心地用移液器吸弃上清液。

8) 加入 700 μ l Buffer WG，盖上管盖，温和地反复翻转离心管使沉淀分散开来。

* 确认在 Buffer WG 中已经加入无水乙醇。

* 此步骤不可用漩涡振荡，否则可能导致大片段 DNA 的断裂。

9) 12000 rpm 离心 30 秒，小心地用移液器吸弃上清液。盖上管盖，低速离心数秒使管壁上的溶液沉淀到管底。

10) 小心地用 20~200 μ l 移液器尽可能吸尽并丢弃上清液。室温晾干沉淀。

* 沉淀晾干时应呈白色粉末状。

* 可以将离心管放置到 37 $^{\circ}$ C 恒温箱中加快干燥速度，但不应用负压干燥，因为负压干燥会导致过度干燥而影响 DNA 的洗脱效率。

11) 加入 20~30 μ l Buffer TE，用手指轻弹离心管使沉淀分散开来，50 $^{\circ}$ C 水浴 10 分钟。

* 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。

12) 12000 rpm 离心 30 秒，小心地用移液器吸取含有 DNA 的上清液转移到另一个洁净的离心管中。获得的 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。