

聚丙烯酰胺凝胶 DNA 回收试剂盒使用说明书

货号：D1250

规格：20T /50T

保存：室温(15°C-25°C) 干燥保存，复检期 12 个月。

试剂盒内容：	D1250-20T	D1250-50T
溶液 A	5ml	15ml
溶液 B	20ml	50ml
漂洗液	15ml	15ml
洗脱液	1.5ml	1.5ml
研磨杵	20 个	50 个
过滤柱	20 个	50 个
吸附柱	20 个	50 个
说明书	1 份	1 份

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，从聚丙烯酰胺凝胶上回收 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。使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于后续各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

操作步骤：

第一次使用前请先在 15ml 漂洗液中加入 60ml 无水乙醇，所有离心步骤均可使用台式离心机在室温下离心。

1. 将单一的目的 DNA 条带从聚丙烯酰胺凝胶中切下（尽量切除多余部分），放入 1.5ml 离心管中，称取重量，用研磨杵将胶尽量挤压碎。加入 2 倍体积的溶液 A 吹打混匀（每 100mg 胶加入 200ul 溶液 A），75°C 水浴 30 分钟。
2. 用 1ml 的去尖吸头吸取混合物至过滤柱中（将胶一起吸入，溶液过多时可分次加入），13,000rpm 离心 1 分钟。将收集管中的滤出液转入新离心管中。
3. 取 6 倍体积溶液 B 加入原离心管中（每 100mg 胶加入 600ul），清洗管壁后加入过滤柱中（溶液过多时可分次加入），颠倒过滤柱或轻轻吹打几次混匀，13,000rpm 离心 1 分钟。将所有收集的滤出液混合。
4. 将总滤出液混匀后加入吸附柱中（溶液过多时可分次加入），13,000rpm 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。
5. 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），13,000rpm 离心 30-60 秒，倒掉废液，将吸附柱重新放入收集管中。
6. 向吸附柱中加入 600ul 漂洗液，13,000rpm 离心 30-60 秒，倒掉废液。

7. 将离心吸附柱放回收集管中，13,000rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液。将吸附柱开盖置于室温 1-2 分钟，彻底晾干，以防止残留的漂洗液影响下一步的实验。
8. 将吸附柱放到一个干净离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加适量 65-70℃ 预热的洗脱缓冲液 20-30ul，室温放置 2 分钟。13,000rpm 离心 2 分钟收集 DNA 溶液。注意：①为了增加回收效率，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，13,000rpm 再次离心 1 分钟。②洗脱缓冲液体积不应少于 20ul，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。
9. DNA 回收产物直接后续实验或者 -20℃ 保存。

注意事项：

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. 切胶时，紫外照射时间应尽量短，以免对 DNA 造成损伤。
3. 本试剂盒对 <50bp DNA 片段回收效率偏低（30%左右），如要回收，应加大结合液的体积，延长吸附和洗脱的时间。
4. 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。