杭州新景生物试剂开发有限公司
地址：浙江省杭州市西湖科技经济园西园一路 8 号 4 幢 5F
邮编：310030 电话：0571-87381295 传真：0571-87381297

凝胶 DNA 回收试剂盒（10-50 kb）说明书

产品组成

凝胶 DNA 回收试剂盒（10-50 kb） Cat. No.	5 次样品 2003005	50 次制备 2003050	250 次制备 2003250
Buffer SI	180 µl	1.8 ml	9 ml
Buffer G	3 ml	30 ml	150 ml
Buffer WS	3 ml	30 ml	150 ml
Buffer WG（浓缩液）	2.2 ml	25 ml	40 ml×3
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

产品如果储存于常温（0~30℃），可在三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三年以上（2~8℃储存的产品使用前应先恢复到室温后再使用）。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn，电话：400-0099-857。

产品介绍

本试剂盒适合从多至 400 mg 琼脂糖凝胶中回收 DNA（10-50 kb），回收率为 50~75%。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，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. 1.5 ml 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 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）、旋涡振荡器、水浴锅
5. 可能需要 3 M 醋酸钠（pH 5.0）。

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. 将水浴锅的温度设置为 50℃。
3. 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做好“乙醇已加”的标记。

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 1 mg 凝胶换算为 1 µl 凝胶体积）。**

* 比如 200 mg 凝胶应加入 200 µl Buffer G。

3. **旋涡振荡 Buffer SI 使其中的介质全部悬浮起来，吸取 30 µl Buffer SI 到装有凝胶的 1.5 ml 离心管中。**
4. **将离心管置于 50℃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。

* 观察完溶解情况后用手指轻弹离心管使底部白色介质悬浮起来，并翻转混匀。

* Buffer G 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 µl 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 的回收效率。

5. **8000 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 µl Buffer WS，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。

* 此步骤不可用旋涡振荡，否则可能导致大片段 DNA 的断裂；如果沉淀不易分散，可用手指轻弹管壁使其分散开来。

7. **8000 rpm 离心 30 秒，小心地用移液器吸弃上清液。**
8. **加入 1 ml Buffer WG，盖上管盖，温和地翻转离心管使沉淀分散开来。8000 rpm 离心 30 秒，小心地用移液器吸弃上清液。**

* 确认在 Buffer WG 中已经加入无水乙醇。

* 此步骤不可用旋涡振荡，否则可能导致大片段 DNA 的断裂；如果沉淀不易分散，可用手指轻弹管壁使其分散开来。

* 可省略步骤：重复步骤 8 一次。重复洗涤一次可确保获得盐分残留更低的 DNA。

9. **盖上管盖，低速离心数秒使管壁上的溶液沉降到管底。小心地用 20~200 µl 吸头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℃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。

10. **加入 20~30 µl Buffer TE，用手指轻弹离心管使沉淀分散开来，50℃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。

11. **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℃备用。**