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

聚丙烯酰胺凝胶 DNA 回收试剂盒说明书

产品组成

聚丙烯酰胺凝胶 DNA 回收试剂盒 Cat. No.	5 次样品 2005005	50 次制备 2005050	250 次制备 2005250
研磨棒	5 个	50 个	250 个
过滤柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 离心管	5 个	50 个	250 个
Buffer PIS	1.8 ml	18 ml	90 ml
Buffer AE	3.6 ml	36 ml	180 ml
Buffer PW	6 ml	60 ml	150 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使产品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

本试剂盒采用了沉淀法的原理，可从多至 300 mg 的聚丙烯酰胺凝胶中回收各种长度的单链 DNA 和双链 DNA，回收的 DNA 可直接用于连接反应、PCR、Southern 杂交等分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 移液器及吸头
2. 一次性手套、纸巾及防护用品
3. 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）
4. 水浴锅

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 65℃。

操作步骤

1. 将含有目的DNA片段的聚丙烯酰胺凝胶切下，转移到一个自备的1.5 ml离心管中，用研磨棒将凝胶充分捣碎。

* 尽量减少多余的凝胶体积，将凝胶重量控制在0.3 g以下。

2. 加入300 µl Buffer PIS，65℃孵育1-4小时。

* 孵育时间取决于凝胶块的大小和DNA片段的大小。对于100 bp大小的DNA片段，在65℃孵育4小时后，洗脱效率最高可达70%左右，对于较大的凝胶块和较长的DNA片段，则需要更长的孵育时间。
* 若凝胶体积较大，重量超过0.3 g，可增加Buffer PIS的用量至将凝胶碎片完全浸没。

3. 将破碎的凝胶及溶胶液全部转移至过滤柱中，12000 rpm离心5分钟。

* 可用吸头将凝胶碎片拨到过滤柱中。
* 若凝胶重量超过0.3 g，需分次滤过过滤柱，每次过滤后需先将过滤液转移至自备的离心管中。

4. 将滤液转移至自备的1.5 ml离心管中，加入600 µl（2倍体积）的Buffer AE，盖上管盖，充分颠倒混匀。

* －20℃静置30分钟有助于DNA的沉淀。

5. 12000 rmp离心15分钟，小心吸弃上清。

* 在离心机中放置离心管时，最好将离心管的塑料柄朝外，这样沉淀总是聚集在离转头中心最远的离心管内壁，也就是离心管柄的那一面。知道DNA沉淀在什么地方，就可以较容易地找到可见的沉淀，即使因核酸量较少而看不到沉淀，也能知道其所在的位置，从而将吸头贴在另一面进行操作，避免吸弃上清时带走沉淀。后续吸弃上清步骤同上，小心操作尽可能保留管底及管壁的DNA沉淀。

6. 加入1 ml Buffer PW，盖上管盖，重悬沉淀。12000 rmp离心5分钟，小心吸弃上清。

7. 低速离心数秒使管壁上的溶液沉降到管底，用200 µl吸头小心吸尽残留液体。开盖，室温静置5-10分钟晾干。

8. 加入15~30 µl Buffer TE溶解DNA沉淀。