

凝胶大片段 DNA（10-50 kb）回收试剂盒说明书

产品组成

凝胶大片段 DNA（10-50 kb）回收试剂盒 Cat. No.	5 次样品 2013005	50 次制备 2013050	250 次制备 2013250
过滤柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 收集管	5 个	50 个	250 个
Buffer SI	360 μ l	3.6 ml	18 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 $\times$ 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

产品储存于常温（0~30℃），可在三年内保持使用性能无明显变化。

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 500 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、水浴锅或恒温箱
5. 可能需要 3 M 乙酸钠（pH 5.2）。

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. 将水浴锅或恒温箱的温度设置为 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 μ l 凝胶体积）。
* 比如 200 mg 凝胶应加入 200 μ l Buffer G。
3. 旋涡振荡 Buffer SI 使其中的介质全部悬浮起来，吸取 60 μ l Buffer SI 到装有凝胶的 1.5 ml 离心管中。
* 如果吸头开口较小可以用刀片将开口切大一点，确保白色介质不会堵塞吸头。
4. 盖上管盖，将离心管置于 50°C 温育直至凝胶完全溶解（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。不可用旋涡振荡，否则可能导致大片段 DNA 的断裂。
* 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 μ l 3 M 乙酸钠（pH 5.2）使溶液恢复至原来的颜色，否则将影响 DNA 的回收效率。
5. 用 1 ml 吸头将步骤 4 中的液体和白色介质全部转移到过滤柱中（过滤柱置于 2 ml 收集管中），盖上管盖，8000 rpm 离心 30 秒。
* 如果凝胶重量超过 400 mg，则需要分两次将液体和白色介质滤过过滤柱。
6. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将过滤柱置回到 2 ml 收集管中，加入 500 μ l Buffer WS，盖上管盖，用手指轻弹管壁使过滤柱中的白色介质分散开来。8000 rpm 离心 30 秒。
* 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。
7. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将过滤柱置回到 2 ml 收集管中，加入 800 μ l Buffer WG，盖上管盖，用手指轻弹管壁使过滤柱中的白色介质分散开来。8000 rpm 离心 30 秒。
* 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。
* 可省略步骤：重复步骤 7 一次。重复洗涤一次可确保获得盐分残留更低的 DNA。
8. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将过滤柱置回到 2 ml 收集管中，12000 rpm 离心 1 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 2 ml 收集管，将过滤柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中，加入 20~30 μ l Buffer TE，盖上管盖，50°C 温育静置 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。
10. 12000 rpm 离心 30 秒，弃过滤柱，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°C 备用。
* 可能会有少量白色介质和 DNA 一同洗脱下来，白色介质会沉在离心管底，不会对后续实验造成影响，取上清液进行实验即可。