

# DNA 凝胶回收试剂盒

## 货号

CY706-200

## 产品组成

组分	规格 (200次)
Buffer GN (黄色)	110 mL
Buffer W1	75 mL
Elution Buffer	25 mL
吸附柱 EC	200 套

## 保存条件

常温 (10~25℃) 干燥条件下保存 15 个月。

## 产品简介

本试剂盒适用于从琼脂糖凝胶中回收多至 10 μg DNA (80 bp~10 kb), 回收率可达 65~85%。琼脂糖凝胶在高离序盐中 (Buffer GN) 溶解后, DNA 片段选择性吸附于离心柱内的硅基质膜上。回收后的 DNA 纯度高, 并能保持片段完整性和高生物学活性, 可直接用于测序、连接、PCR 扩增、体外转录等分子生物学实验。

## 产品特点

- ✧ 快速: 胶块无需称重, 操作简便;
- ✧ 高效: 回收效率高, 获得的目的 DNA 纯度高;
- ✧ 适用性广: 一盒两用, 可用于 DNA 片段凝胶回收及 PCR 产物直接回收等。

## 适用范围

本品适用于 PCR 产物直接回收、DNA 片段的凝胶回收、酶切产物的凝胶回收等。

## 注意事项

1. Buffer W1 使用前加入指定量的无水乙醇，各溶液使用后请及时将盖子拧紧；
2. 若回收凝胶中的 DNA 片段，电泳时应使用新的电泳缓冲液，以免影响电泳和回收效果；
3. 建议使用高质量的琼脂糖，以免其中杂质影响下游连接等实验；
4. Buffer GN 中含刺激性溶液，操作时要戴乳胶手套和眼镜；
5. 回收产物可通过琼脂糖电泳或分光光度计检测是否回收成功。使用分光光度计时，若使用 Elution Buffer 进行洗脱，建议使用 Elution Buffer 进行校准。

## 使用方法

### 一、PCR 产物直接回收

1. 按照 PCR 原液：Buffer GN=1：3 的比例加入 Buffer GN（不少于 150  $\mu$ L）后吸打混匀（如：在 1.5 mL 离心管中，50  $\mu$ L PCR 原液加入 150  $\mu$ L Buffer GN 后吹打混匀）；

直接进入步骤 5。

### 二、从琼脂糖凝胶中回收

1. 在 365 nm 长波紫外灯下，用干净刀片将目的条带切下，尽量切除不含目的 DNA 条带，得到凝胶体积越小越好（切胶时，为避免紫外照射时间过长对 DNA 造成损伤，建议快速切胶）；
2. 将含有目的 DNA 条带的凝胶放入 2 mL 离心管中，加入 500  $\mu$ L 的 Buffer GN（若胶块过大，适当添加 Buffer GN 至溶液呈淡黄色）；
3. 65 $^{\circ}$ C 水浴 4~6 min，每 2~3 min 上下颠倒混匀一次至凝胶完全融化，溶液呈淡黄色；
4. 将溶液转入吸附柱 EC 中，12,000  $\times$ g 离心 1 min，弃废液，将吸附柱 EC 放回空收集管；
5. 在吸附柱 EC 中加入 600  $\mu$ L Buffer W1（请先检查是否已加入指定体积的无水乙醇），12,000  $\times$ g 离心 1 min，弃废液；

**注意：如果回收的 DNA 是用于克隆实验或直接测序等，建议 Buffer W1 加入后静置 2~5 min 再离心。**

6. 重复步骤 5 一次；
7. 将吸附柱 EC 放回空收集管中，12,000  $\times$ g 离心 2 min；
8. 取出吸附柱，置于干净的 1.5 mL 离心管中，20~25 $^{\circ}$ C 开盖静置 2 min，在吸附膜的中间部位加 35~50  $\mu$ L Elution Buffer（60~65 $^{\circ}$ C 预热 Elution Buffer 效果更好），20~25 $^{\circ}$ C 放置 2 min，12,000  $\times$ g 离心 2 min。如需较多量 DNA，可将得到的溶液重新转入吸附柱中，离心 2 min。

**注意：洗脱体积越大，洗脱得率越高。若需得到较高浓度的 DNA，可以适当减少洗脱体积，但最小体积应不少于 25  $\mu$ L，体积过小会降低 DNA 洗脱得率，降低产量。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若后续做测序，需使用 ddH<sub>2</sub>O 洗脱，保证 pH 值在 7.0~8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。DNA 产物应保存在 -20 $^{\circ}$ C 以防 DNA 降解。**

## 常见问题与解决办法

### Q1: DNA 回收率低 ?

#### A1:

- 1) 琼脂糖凝胶未完全溶化。尽可能切除不含目的片段的琼脂糖，溶胶时多次上下颠倒使凝胶充分溶化，确保无固体琼脂糖残留；
- 2) 试剂准备有误。Buffer W1 需按照瓶身标示加入指定体积的无水乙醇；
- 3) 洗脱效率低。将 Elution Buffer 预热至 60~65℃,并进行二次洗脱。

### Q2: 纯化后的 DNA 下游结果不理想?

#### A2:

- 1) 盐离子残留。确保用 Buffer W1 洗脱两次，此外沿吸附柱管壁四周加入 Buffer W1，或加入 Buffer W1 后颠倒混匀 2 ~3 次有助于完全冲洗沾附于管壁上的盐离子；
- 2) 琼脂糖残留。尽可能切除不含目的片段的琼脂糖，多次上下颠倒使凝胶充分溶化，确保无固体琼脂糖残留。