

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°C) 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 μ g 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 μL ）后吸打混匀（如：在 1.5 mL 离心管中，50 μL PCR 原液加入 150 μL 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 μL 的 Buffer GN（若胶块过大，适当添加 Buffer GN 至溶液呈淡黄色）；
3. 65 $^{\circ}\text{C}$ 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 $\times\text{g}$ 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 μL Buffer W1（请先检查是否已加入指定体积的无水乙醇），12,000 $\times\text{g}$ 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 $\times\text{g}$ 离心 2 min；
8. 取出吸附柱，置于干净的 1.5 mL 离心管中，20~25 $^{\circ}\text{C}$ 开盖静置 2 min，在吸附膜的中间部位加 35~50 μL Elution Buffer（60~65 $^{\circ}\text{C}$ 预热 Elution Buffer 效果更好），20~25 $^{\circ}\text{C}$ 放置 2 min，12,000 $\times\text{g}$ 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 μL ，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 ddH₂O 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 $^{\circ}\text{C}$ 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°C,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。