



## 琼脂糖凝胶 DNA 纯化回收试剂盒

Catalog No. EM2301-01

Size 50T

### 简介

本试剂盒中的硅基质膜材料可以在特有的缓冲系统中特异性吸附 DNA。试剂盒用于 TAE 或 TBE 电泳系统的琼脂糖凝胶中所需要的 DNA 片段的回收，同时除掉无机盐、蛋白质和有机物等杂质，达到纯化目的。一般长度的 DNA 片断，回收率达 80% 以上，小于 200bp 和大于 10kb 以上的片断回收率稍低（40-60%）。回收的 DNA 片断可以用于 PCR、连接反应、序列测定和酶切等后续分子生物学实验。

### 试剂盒组成

离心柱及收集管 各 50 支

溶胶液 GS 50ml 洗涤液 WB 20 ml 洗脱液 EB 15 ml

pH 调整液 PA 1.5ml

### 保存条件及有效期

试剂盒保存在室温干燥环境，有效期为 12 个月。更长保存时间请置于 2-8℃，当低温保存时，使用前应将试剂盒中溶液放在室温平衡至少 30 分钟。如试剂出现结晶，可以将试剂瓶置于 55℃ 水浴加热，溶液变清亮并降至室温后再使用。

### 操作步骤

所有离心步骤皆使用台式离心机，为室温下操作。

第一次使用前请先参考试剂瓶上的标签，在洗涤液 WB 中加入无水乙醇。

1. 在紫外灯下快速切取含目的 DNA 片段的琼脂糖凝胶，尽量去掉条带周围多余的凝胶。放在 1.5ml 离心管中，用 1ml TE 缓冲液洗一次。用吸头彻底吸掉液体并用之捣碎凝胶。离心数秒，估计一下离心管中凝胶的体积，加入 3 倍凝胶体积的溶胶液 GS。当目的 DNA 片断较小时，可以适当加大溶胶液 GS 的用量。（也可以用称量的方法进行计算，一般 1% 浓度的 0.1g 琼脂糖凝胶大致相当于 100μl 液体）
2. 观察凝胶的溶化状况及液体的颜色变化。溶胶时可将离心管放在 60℃ 水浴中，其间可温和地颠倒数次以加速凝胶的溶化。长时间保温时还存在不溶的胶块，可以适当添加一些溶胶液 GS。
3. 等凝胶彻底融化成为胶溶液后，将离心管从 60℃ 水浴中取出并晾至室温。此时如观察到胶溶液颜色变红，请添加适量 pH 调整液 PA，保证液体颜色为橙黄色。（对于小于 500bp 以下的片断可以添加与凝胶体积相当的异丙醇以增加回收率）。
4. 将胶溶液转移到带吸附膜的离心柱中，静置 2 分钟，12,000rpm 离心 30 秒。若一次没加完，可分多次操作。
5. 倒掉收集管中的滤液，将离心柱重新装在收集管中（收集管中的滤液重新上样可以提高回收率）。
6. 加入 700μl 洗涤液 WB 于离心柱中，12,000rpm 离心 30 秒。
7. 倒掉收集管中的滤液，将离心柱重新装在收集管中。再加入 500μl 洗涤液 WB 于离心柱中 12,000rpm 离心 30 秒，弃滤液。将离心柱重新装在收集管中，12,000rpm 离心 1-2 分钟，充分离心去掉洗涤液。

## 琼脂糖凝胶 DNA 纯化回收试剂盒

8. 将离心柱重新装在收集管中，置于室温或 37℃ 烘干箱中数分钟，充分地晾干以除掉洗涤液中的乙醇。
9. 将晾干后的离心柱装在一个高压灭菌处理过的 1.5ml 离心管中，向离心柱膜中央加入 20 $\mu$ l 洗脱液 ES 或去离子水，室温静置 2min，12,000rpm 离心 1 分钟，洗脱 DNA。

（洗脱液 EB 可以先放在 60℃ 水浴中保温，稍高温度的洗脱液可以提高洗脱效率具体用量视用户对 DNA 浓度要求而定）

10. 洗脱得到的 DNA 经琼脂糖凝胶电泳检测定量便可以用于后续实验。当时不用时请冻存于 -20℃ 备用。

EMAR

EMAR