

免费服务专线:4000-855-868 网站:www.mdbio.com.cn 电子邮件:mdbio@mdbio.com.cn

### 产品名称 & 产品编号

产品名称:琼脂糖凝胶 DNA/PCR 产物回收试剂盒

产品编号:KT013-100 次

### 产品介绍

本试剂盒采用独特的缓冲液系统和高吸附性硅基质材料,适用于从 TAE / TBE 琼脂糖凝胶或 PCR/酶切产物中回收 DNA 片段,同时除去蛋白质、其它有机化合物、无机盐离子等杂质。使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

### 试剂盒组成

| Component                             | DNE58 (Preps)    |
|---------------------------------------|------------------|
| Buffer BL                             | 10ml             |
| Buffer GL                             | 100ml            |
| Buffer WB (concentrate)               | 25ml (使用前加上无水乙醇) |
| Buffer EB                             | 10               |
| Spin Columns AC with Collection Tubes | 100              |

### 保存条件

室温 (15-30℃) 保存。

### 注意事项

- 1) 平衡液 Buffer BL 的加入能够改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性,消除高温/潮湿或其他不良因素对吸附柱造成的影响。使用前请检查平衡液 BL 是否出现浑浊,如有浑浊现象,可在 37℃ 水浴中加热几分钟,即可恢复澄清。
- 2) 电泳时最好使用新的电泳缓冲液,以免影响电泳和回收效果。
- 3) 回收的 DNA 片段一般在 100 bp 到 40 kb 之间,过长、过短片段的回收效率会迅速降低。
- 4) 回收 DNA 的量和起始 DNA 的量、洗脱体积、DNA 片段大小有关。一般而言,1-20  $\mu$ g, 100 bp-5 kb 的 DNA 片段,回收效率可达 85%以上。
- 5) 切胶回收时,紫外照射时间应尽量短,以免对 DNA 造成损伤。
- 6) 第一次使用前请先在 Buffer WB 瓶加入指定量无水乙醇,充分混匀,加入后请及时在方框内打钩标记,以免重复加入!
- 7) Buffer EB 中不含有螯合剂 EDTA 成分,不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱,但应该确保 pH 大于 7.5, pH 过低影响洗脱效率。
- 8) 如果 GL 发生结晶,可在 50-60℃ 温水中放置 3-5 分钟。

**标准抽提步骤** (以下所有离心步骤均在室温完成)

1. 柱平衡步骤: 向吸附柱 Spin Columns AC 中 (吸附柱放入收集管中) 加入 100  $\mu$ l Buffer BL, 12,000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ ) 离心 1 min, 弃废液, 将吸附柱重新放回收集管中。(请使用当天处理过的柱子)

### 2. 从琼脂糖凝胶中回收 DNA

a. 将单一的目的 DNA 条带从琼脂糖凝胶中切下 (尽量切除多余部分), 放入干净的离心管中称重 (提前记录空离心管重量)。

b. 向胶块中加入 3 倍体积 Buffer GL (如果凝胶重 100 mg, 其体积可视为 100  $\mu$ l, 则加入 300  $\mu$ l Buffer GL, 以此类推), 56°C 水浴放置 10 min, 其间每隔 2-3 min 涡旋混匀一次, 以确保胶块充分溶解。接步骤 3。

注意: 1) 如果凝胶浓度 > 2%, 应加入 6 倍体积 Buffer GL。2) 可选, 一般不需要:

当回收片段 < 300 bp 时, 每 100 mg 最初凝胶重量加入 150  $\mu$ l 异丙醇, 以提高回收效率。

### 从 PCR 产物或酶切反应液中回收 DNA

a. 估计 PCR 反应液或酶切反应液的体积, 向其中加入 5 倍体积的 Buffer GL, 充分混匀 (无需去除石蜡油或矿物油)。如 PCR 反应体系为 50  $\mu$ l (不包括石蜡油体积), 则加入 250  $\mu$ l Buffer GL。接步骤 3。

3. 将上一步所得溶液加入到已装入收集管的吸附柱 (Spin Columns AC) 中, 室温放置 1 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液。

注意: 吸附柱容积为 750  $\mu$ l, 若样品体积超过 750  $\mu$ l 可分两次加入。

4. 向吸附柱 AC 中加入 600  $\mu$ l Buffer WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000 rpm 离心 30 s, 弃废液。

5. 重复操作步骤 4。

6. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 弃收集管。

注意: 漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应 (酶切、PCR 等) 实验。

7. 将吸附柱 AC 放到一个干净的离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 30-50  $\mu$ l Buffer EB, 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 1 min 收集 DNA 溶液。

注意: 1) Buffer EB 不应少于 30  $\mu$ l, 体积过小影响回收效率。Buffer EB 在 56°C 水浴中预热可增加回收效率。2) 为了提高 DNA 回收量, 可将离心得到的 DNA 溶液重新加入到吸附柱中, 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 1 min。