



DNA凝胶回收与纯化试剂盒 (玻璃奶型)

(DNA Extraction Kit)

产品说明:

本试剂盒利用高盐浓度下硅类颗粒对DNA独特吸附的原理,清除凝胶与其它杂质。采用对DNA有很高结合能力的基质,和独特设计的配方,增加了固定步骤,能稳定高效地纯化和回收琼脂糖电泳获得的DNA片段。TAE电泳凝胶的DNA回收率可达到70~80%,TBE电泳凝胶由于硼酸对DNA与基质结合的抑制作用, DNA回收率略低。此外,本试剂盒还可用于各种酶反应DNA的后续处理,能纯化含有蛋白、寡核苷酸、小分子标记物、盐分等杂质的DNA溶液(回收率可达到80~90%),如单一条带的PCR产物溶液。回收的DNA片段可直接用于的酶切、连接、测序、标记和杂交等一系列操作。

产品内容与储存方法:

名称	数量	保存条件
Buffer I (溶胶结合液)	30 ml	RT
Buffer II (固定液)	30 ml	RT
Buffer III (洗涤液) *	12 ml	RT
Elution Buffer (洗脱液)	5 ml	RT
DNA Binding Matrix (DNA结合基质)**	0.5 ml	RT

试剂盒可作100次DNA凝胶回收和纯化。*Buffer III (洗涤液)在首次使用时加入无水乙醇48 ml混匀。** DNA Binding Matrix为固体颗粒与液体1/1混合物,如使用中因液体蒸发致液体含量减少,可补加适量蒸馏水恢复其液体含量。常温运输,室温保存。有效期6个月。

所需其它试剂:

使用者需准备加入Buffer III (洗涤液)的无水乙醇。

操作方法:

凝胶回收操作方法:

- 1) DNA电泳(建议使用TAE缓冲液进行琼脂糖凝胶电泳)结束后,用洁净刀片在紫外灯下切出相应片段。仔细将胶块中无DNA部分去除掉。
- 2) 含DNA的琼脂糖胶块装入1.5 ml离心管,估算其重量(每管不超过0.2 g)。加入Buffer I (溶胶结合液) 300 μ l(胶块 \leq 0.1 g)或600 μ l(胶块 $>$ 0.1 g)。DNA Binding Matrix (DNA结合基质)震荡混匀后取5 μ l加入以上液体。
- 3) 离心管置于50~60 $^{\circ}$ C水浴5~10 min,每隔2~3 min取出混悬震荡10 sec,至琼脂糖凝胶完全溶解。
- 4) 室温放置5 min,于台式离心机上高速离心1 min,小心吸去液体。
- 5) 加入Buffer II (固定液) 300 μ l或600 μ l,吹打混匀,高速离心1 min,小心吸去液

体。

- 6) 加入Buffer III（洗涤液）600 μ l，吹打混匀，高速离心1 min，小心吸净液体。室温晾干5 min。
- 7) 加入20-50 μ l Elution Buffer，混悬震荡，置于50~60 $^{\circ}$ C水浴5 min。高速离心1 min，小心吸出上清液体，转入新的离心管中，即为纯化的DNA溶液。尽量不要带出基质颗粒，如有少量基质颗粒混入纯化的DNA溶液，可离心后再将液体转移至新管中。
- 8) 如果需要，可向剩余基质中加入Elution Buffer，重复上一步洗脱步骤；获得的上清液体合并入前一DNA溶液，以提高回收率（DNA浓度会相应下降）。

DNA溶液纯化操作方法：

DNA溶液依照体积加入Buffer I（溶胶结合液）300 μ l（体积 \leq 0.1 ml）或600 μ l（体积 \leq 0.2 ml），和DNA结合基质5 μ l。除省略加热溶胶步骤外，其余均按凝胶回收方法操作。

注意事项：

DNA凝胶回收效率依赖于DNA片段的大小。一般200 bp~10 kb片段可获得高效回收。100 bp以下片段回收效率明显下降。凝胶中DNA含量也会影响回收率。DNA含量过少，回收率也会有所下降。5 μ l DNA结合基质的DNA结合量一般可达2~3 μ g。如估计凝胶中DNA含量超过这个数量，可相应提高基质的用量。