



# DNA胶回收试剂盒

(200次)

货号：HZDGEK200-I

## 一、内装

产品名称	规格	用途	储存条件
MTB溶液	160ml	溶胶	25-30°C可保存6个月
CB溶液	40ml	漂洗, 脱盐 (使用前加入160ml无水乙醇)	25-30°C可保存6个月
EB溶液	6ml	洗脱DNA	25-30°C可保存6个月
NB溶液	1ml	调节溶胶后溶液pH值	25-30°C可保存6个月
吸附柱	200个	结合DNA	干燥避光下保存12个月
收集管 (2ml)	200个	收集吸附柱离心后的液体	干燥避光下保存12个月

所有溶液应该是澄清的, 如果环境温度低、溶液静置时间久, 可能会有沉淀形成, 属于正常现象, 使用前可在37°C水浴中温浴5-10分钟。

## 二、操作步骤

1. 在紫外灯下，用干净刀片将所需回收的DNA条带切下，尽量切除多余部分，得到的凝胶体积越小越好。

**注意：**电泳时最好选用新的TAE电泳缓冲液；紫外灯下切胶时间不宜过长。

2. 将切下的含有DNA条带的凝胶放入1.5ml离心管中，加入750 $\mu$ l MTB溶液，55 $^{\circ}$ C水浴或金属浴放置10-15分钟，每隔5分钟上下颠倒数次，以确保胶块充分溶解。

**注意：**如果胶块体积过大，可将胶块切碎；溶胶后，若溶液的颜色变为桔红色或紫色，应加入5-10 $\mu$ l NB溶液，使其变回淡黄色；对于回收的DNA片段<500bp时，待胶块完全溶解，可加入同等胶块体积的异丙醇，上下颠倒混匀后再过吸附柱，有利于提高DNA回收率。

3. 将上一步所得溶液加入到已装入收集管的吸附柱中，室温12000rpm离心1分钟，弃掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

**注意：**吸附柱容积为800 $\mu$ l，溶胶后溶液体积大于800 $\mu$ l可分两次加入。

4. 向吸附柱中加入500 $\mu$ l CB溶液（使用前加入无水乙醇），室温12000rpm离心1分钟，弃掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

**注意：**如果纯化的DNA用于盐敏感的实验，建议加入CB溶液后静置2分钟再离心。

5. 重复步骤4一次。

**注意：**此步骤目的是洗去吸附柱上的盐和其他离子，不应省略。

6. 室温12000rpm离心2分钟，彻底去除吸附柱中的漂洗液，丢弃收集管，将吸附柱置于一个新的离心管中。

7. 开盖室温静置5分钟，向吸附柱中间部位的吸附膜滴加15-25 $\mu$ l EB溶液。

8. 扣盖室温静置5分钟，室温12000rpm离心2分钟，将DNA溶液收集至离心管中。

**注意：**可将收集的DNA溶液再次加入至吸附柱中离心，也可将EB溶液温浴至70 $^{\circ}$ C后再进行洗脱，以提高DNA的回收率；洗脱液的pH值会影响洗脱效率，若用ddH<sub>2</sub>O洗脱，应确保其pH值在7.0-8.5范围内。

### 三、DNA的检测

实验室常用1%琼脂糖凝胶电泳检测回收的DNA片段纯度。

测DNA浓度时， $OD_{260}/OD_{280}$ 比值应在1.7-1.9范围内，1.8为最佳。