

**描述:** HaiGene DNA 凝胶回收试剂盒在原有产品的基础上进行了改良, 其优点为能更快更好的溶胶, 回收的效率更高。该试剂盒采用机械切割的硅胶膜吸附材料作为离心吸附柱, 应用优化好的特定缓冲液, 可选择性地结合回收目标 DNA, 去除污染杂质; 溶胶液的溶胶效率高, 适用于 TAE 和 TBE 缓冲液; 使用海基 DNA 凝胶回收试剂盒每次可纯化得到高达 40 µg 的 DNA 片段(70 bp~20 Kb), 回收率高达 50~80%。回收的产物可用于 PCR、酶切、连接反应、测序等各种分子生物学实验。

### 组分

| 名 称                            | 50T   |
|--------------------------------|-------|
| Gel-BufferA(溶胶液)               | 15 ml |
| Gel-BufferB(结合液)               | 15 ml |
| Washing Buffer(已含乙醇)           | 55 ml |
| Nuclease Free H <sub>2</sub> O | 6 ml  |
| 吸附柱芯(NP05)                     | 50 套  |
| 2 ml 吸附柱外套管                    | 50 套  |
| 1.5 ml 收集管                     | 50 套  |

### 注意事项:

- 1.1 Washing Buffer 中含有 70%乙醇, 使用时远离火源。
- 1.2 整套吸附柱的准备:提前将吸附柱芯放入到 2 ml 吸附柱外套管中, 待用。
- 1.3 在室温条件下保存, 有效期为 2 年。

### 操作方法

1. 在琼脂糖凝胶-EB 电泳后, 在紫外灯上小心的把所需的 DNA 片段切下, 尽量去除多余的凝胶并尽量少带电泳缓冲液, 称重, 装入 1.5 ml 离心管。
2. 按照凝胶的重量近似的估计其体积, 假设其密度为 1g/ml, 凝胶的体积可按如下方法计算: 若凝胶薄片的重量为 0.15 g, 则其体积为 150 µl。
3. 在上述离心管中加入 2 倍体积的 Gel-Buffer A (如 0.15 g 胶, 加入 300 µl Gel-Buffer A), 颠倒混匀后放入 56 °C 水浴锅中加热 5~10 min。每隔 2 min 颠倒混匀一次。
4. 溶胶后, 加入 300 µl 的 Gel Buffer B(与 Gel Buffer A 等体积), 旋涡混合均匀 10s。
5. 待溶液冷却至室温后, 直接倒入吸附柱芯中, 13,000rpm 室温离心 30 s。
6. 再次将过柱液倒入吸附柱中, 13,000rpm 室温离心 30 s, 倒掉收集管中的液体。
7. 向吸附柱中加入 500 µl Washing Buffer, 盖上管盖, 并上下颠倒 2~3 次 (进行吸附芯和管壁洗涤), 放入离心机 13,000rpm 室温离心 30 s, 弃收集管中废液。
8. 再次重复步骤 3 洗涤一次, 弃收集管中废液。
9. 将吸附柱重新放入套管中, 再 13,000rpm 室温离心 2 min。
10. 将吸附柱置于 1.5 ml 离心管上, 静置 2 min, 使痕量乙醇完全挥发后加入 20~30 µl 的 Nuclease Free H<sub>2</sub>O 至管内柱面上, 放置 1 分钟。
11. 13,000rpm 室温离心 1 min, 所得液体即为回收的 DNA 溶液。冷冻保存。