

大片段 DNA 琼脂糖凝胶回收试剂盒（柱式法）使用说明书

【预期用途】

用于琼脂糖凝胶中大片段 DNA (>10kb) 的纯化，大片段 DNA 回收率大于 50%。

【检验原理】

溶胶缓冲液充分溶解琼脂糖凝胶，释放 DNA。在溶胶缓冲液高盐低 pH 值的环境下，吸附柱内的硅胶膜高效吸附释放的 DNA；洗涤吸附柱，去除残留的琼脂糖、盐等杂质；在洗脱液低盐高 pH 值的情况下，硅胶膜释放吸附的 DNA，从而达到快速回收 DNA 的目的。

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	试剂名称	50T	100T	200T
MDT-LDPu01	溶胶缓冲液	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶	40mL×2 瓶
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	AW2 缓冲液	12mL×1 瓶	12mL×2 瓶	24mL×2 瓶
	吸附柱（含收集管）	50 支	100 支	200 支
	洗脱液 B	3mL×1 瓶	6mL×1 瓶	12mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

所有试剂：常温（10-30℃）运输保存。有效期 1 年。

【注意事项】 使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 提前配制 RAW1, RAW1 中乙醇含量低于 60%会影响提取效果。
2. 提前配制 AW2, AW2 中乙醇含量低于 80%会影响提取效果。
3. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
4. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品, 但操作时最好做好必要的防护措施, 戴口罩手套, 并且在通风的生物安全柜中进行。
5. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

含目标 DNA 片段 (>10kb) 的琼脂糖凝胶。

【自备器械和试剂】

小型高速离心机 (最大离心力 $\geq 12,000\times g$)、振荡恒温金属浴、1.5mL 离心管和无水乙醇等。

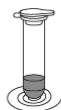
- **RAW1 配制:** RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇, 使乙醇含量为 60%, 混匀后密封常温保存。
- **AW2 配制:** AW2 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇, 使乙醇含量为 80%, 混匀后密封常温保存。

【快速操作流程】



切胶称重

1. 准备工作
 - 检查RAW1是否配制。
 - 检查AW2是否配制。



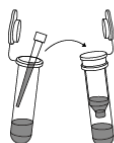
振荡加热

2. 用刀片，从琼脂糖凝胶中切取目的DNA条带。
3. 放入 1.5mL 离心管中，称重。加入 2 倍体积的溶胶缓冲液。
4. 在60°C下1,500rpm振荡孵育（或60°C孵育过程中手工振荡4-5次）至凝胶完全溶解（约5分钟）。



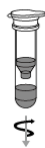
沉淀核酸

5. 向混合液中加入1倍凝胶体积的无水乙醇，吹打混匀。
6. 将吸附柱放入收集管中，转移全部液体至吸附柱。
7. 12,000×g离心1分钟。弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。



过柱吸附

8. 在吸附柱中加入600μL RAW1，12,000×g离心20秒。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。
9. 在吸附柱中加入600μL AW2，12,000×g离心20秒。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。



洗涤

10. 在吸附柱中加入600μL AW2，12,000×g离心20秒。取出吸附柱，丢弃收集管。
11. 将吸附柱放入新的1.5mL离心管中，闭盖12,000×g离心3分钟。取出吸附柱，丢弃离心管。



洗脱

12. 将吸附柱放入新的1.5mL离心管中，加入50μL洗脱液B至吸附柱中心位置。闭盖室温静置3分钟，12,000×g离心1分钟，收集洗脱液。将离心后的洗脱液B重新加入吸附柱进行二次洗脱可以明显提高回收效率。

【标准操作步骤】

1. 选择干净锋利的刀片，在紫外灯下（注意防护），从琼脂糖凝胶中切取目的 DNA 条带。

▶要最大限度地去除多余的琼脂糖。

2. 将凝胶放入干净的 1.5mL 离心管中，称重。加入 2 倍体积的溶胶缓冲液（100mg 的琼脂凝胶等于 100 μ L 体积的溶液）。

▶每 100mg 凝胶加入 200 μ L 溶胶缓冲液。

3. 在 60 $^{\circ}$ C 下 1,500rpm 振荡孵育（或 60 $^{\circ}$ C 孵育过程中手工振荡 4-5 次）至凝胶完全溶解（大约 5 分钟）。

▶确保琼脂糖凝胶完全溶解。

4. 向混合液中加入 1 倍凝胶体积的无水乙醇，吹打混匀。例如，100mg 琼脂糖凝，加入 100 μ L 无水乙醇。

▶无水乙醇加入量过多影响提取效率。

▶加入无水乙醇后不能离心样品。

5. 将吸附柱放入收集管中，转移全部液体至吸附柱。

▶转移液体时，避免液体接触吸附柱的管口。

6. 闭盖 12,000 \times g 离心 1 分钟。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。

7. 开盖，在吸附柱中加入 600 μ L RAW1，闭盖 12,000 \times g 离心 20 秒。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。

►加入 RAW1 时，避免 RAW1 接触吸附柱的管口。

8. 开盖，在吸附柱中加入 600 μ L AW2，闭盖 12,000 \times g 离心 20 秒。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。

9. 将吸附柱重新放入收集管中。开盖，在吸附柱中加入 600 μ L AW2，闭盖 12,000 \times g 离心 20 秒。取出吸附柱，丢弃收集管。

10. 将吸附柱放入新的 1.5mL 离心管中。闭盖 12,000 \times g 离心 3 分钟。取出吸附柱，丢弃离心管。

11. 将吸附柱放入新的 1.5mL 离心管中，加入 50 μ L 洗脱液 B 至吸附柱中心，闭盖。室温静置 3 分钟，12,000 \times g 离心 1 分钟，收集洗脱液，备用。

►将离心后的洗脱液 B 重新加入吸附柱进行二次洗脱可以明显提高回收效率。

►洗脱液 B 的使用量可以根据需要调整，但不得少于 30 μ L。

►洗脱液的使用量太少会影响提取效果。

【说明书编制日期】 2024 年 01 月 25 日、

【基本信息】

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司

公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室

网 址：www.wuxi-medtech.com

联系电话：173 1562 0564（刘经理）

