

## 离心柱法胶回收纯化试剂盒

### 【产品介绍】

本试剂盒利用非碘化钠法溶胶，通过硅胶膜离心柱特异地吸附 DNA，适用于从 TAE 或 TBE 琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段，操作简单快速。用本试剂盒纯化得到的 DNA 可用于酶切、连接、克隆、测序等多种操作。

### 【特点】

非碘化钠法溶胶对下游试剂影响小，纯化所得 DNA 纯度高，浓度大。

### 【试剂盒组成】

组分	目录号：CP-003-050（50 次）
溶胶液 CGB	25 mL
洗涤液 CW	12 mL
洗脱液 EB	6 mL
离心柱（含收集管）	50 个

### 【保存条件】

试剂盒成分置于常温干燥处保存。

### 【操作步骤】

使用前添加 48 mL 无水乙醇到洗涤液 CW 中，并做好标记。

所有离心均在室温下进行。

1. 切取琼脂糖凝胶中的目的 DNA 条带，放入干净的离心管中称重，如凝胶重 100 mg，可视为 100  $\mu$ L（100 mg $\approx$ 100  $\mu$ L），以此类推。
2. 加入 3-5 倍体积溶胶液 CGB，于 55  $^{\circ}$ C 水浴或金属浴加热 5-10 min 融解凝胶，期间混匀数次加速融化（推荐：对于小于 300 bp 的 DNA 片段，建议加入一倍原始胶体积的异丙醇于已融化的凝胶溶液中。）
3. 将所有溶液加入离心柱中，12,000 $\times$ g 离心 1 min，弃流出液（如溶液体积大于 700  $\mu$ L，建议分为 2 次上柱离心）。
4. 加入 500  $\mu$ L 洗涤液 CW（使用前确定已加入无水乙醇），12,000 $\times$ g 离心 30 s，弃流出液。
5. 重复步骤 4 一次。
6. 把离心柱放回收集管中，将空柱子于 15,000 $\times$ g 离心 2 min 以便彻底去除残留的 CW。
7. 将离心柱置于一干净的离心管中，在超净台中开盖风干柱膜 3-5 min（CW 中的乙醇残留可能抑制下游反应）。
8. 在离心柱膜中央加入 30-100  $\mu$ L 洗脱液 EB，静置 1 min（如需提高洗脱效率，可提前将 EB 置于 60-70  $^{\circ}$ C 水浴或金属浴中预热）。
9. 12,000 $\times$ g 离心 1 min，洗脱 DNA，所得 DNA 置于 -20  $^{\circ}$ C 中长期保存。

**【使用注意】**

- 为保证回收效果，电泳时尽量使用新配的电泳缓冲液和凝胶。
- 切胶时，胶块尽量贴近目的条带；融胶时，可将胶块用刀切成小块，确保胶块完全融化。
- 为避免紫外照射对 DNA 造成伤害，影响下游的实验（如克隆、连接），尽量缩短紫外下操作时间。
- 为避免产物污染或降解，建议使用干净、无 DNase 污染的器械或耗材。
- 溶液使用前尽量充分混匀，同时注意避免溶液间交叉污染。