



DNA 快速回收/纯化试剂盒

产品编号: NEP013-1

产品规格: 50T

产品简介:

本试剂盒可从溶液或琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段, 不含盐、蛋白质、RNA 等杂质, 纯度与 CsCl 密度梯度离心相仿。500bp 以上片段, 回收率 80% 以上, 200bp~500bp 回收率 60% 以上, 100bp~200bp 回收率 60%。可回收单链、双链 DNA 片段以及环状质粒 DNA。此方法原理: 本试剂盒所带硅基质膜, 具有在高盐、低 pH 值情况下吸附 DNA, 低盐、高 pH 值情况下释放 DNA 的性质。

组成:

成分	规格	注意事项
溶液 A	60 ml	温度低时, 可能有晶体沉淀, 加热即可
溶液 B	3.5 ml	
溶液 C	13 ml	使用前加入 52ml 无水乙醇
溶液 D	4 ml	TE buffer
离心柱	50 个	单个最大吸附量 20 µg

实验前试剂准备

溶液 C 中加入 52ml 无水乙醇。

储存条件:

本试剂盒所有试剂可均常温保存, 避免阳光、紫外线直射。

步骤:

(一) 从琼脂糖中纯化/回收 DNA 片段

1. 切取含 DNA 片段的琼脂糖凝胶胶块, 尽量将空琼脂糖凝胶切去, 按重量比 1:3 (即 100mg 胶加入 300µl 溶液 A) 加入溶液 A。

注: DNA 片段小于 300 bp 时, 可将溶液 A 按 1:5 加。

2. 55℃~60℃ 水浴 10 min, 胶完全溶化即可, 其间可振荡助溶 2-3 次。
3. 加入 50µl 溶液 B, 震荡混匀。
若混匀后溶液变成粉红色, 则需加大溶液 B 的用量至变到橙黄色或无色。
4. 将溶液置于离心柱中, 静置 2 min, 12,000 rpm 离心 30 s, 若一次加不完, 可分两次离心。
5. 倒掉液体, 加入 500 µl 溶液 C (溶液 C 使用前加入 52 ml 无水乙醇!) 于离心柱中 12,000rpm 离心 30s, 弃液体。
6. 重复步骤 5。
7. 12,000 rpm 再次离心 1 min, 甩干剩余液体以除去残余酒精。
8. 将离心柱置于新的离心管中, 室温敞开离心管盖放置 5~10 min, 使乙醇挥发殆尽。
9. 加入 20~60 µl 溶液 D (溶液 D 用前 50℃ 预热), 静置 2 min。
10. 12,000 rpm 离心 2 min, 管底溶液即为所需 DNA。将 DNA 贮存于 -20℃



(二) 从溶液中纯化回收 DNA 片段

1. 在 DNA 溶液中加入 3 倍体积的溶液 A，充分混匀。

注：DNA 片段小于 300 bp 时，可将溶液 A 可按 1:5 加。

2. 其余步骤接（一）的步骤 3。

纯化效果检测：

回收后得到的产物可用琼脂糖凝胶电泳检测和紫外分光光度计检测浓度和纯度。

DNA 在 260nm 处有吸收峰，检测时应该使 OD₂₆₀ 值在 0.1 到 1.0 之间数值较准确。OD₂₆₀ 为 1 时大概相当于 50μg/ml 双链 DNA，40μg/ml 单链 DNA。

核酸浓度 (μg/ml) = OD₂₆₀ × 50 × 稀释倍数。

OD₂₆₀/OD₂₈₀ 的值应该为 1.7~2.0。

常见问题分析：

常见问题	可能原因	建议
回收率低 或没条带	溶胶时胶块没溶完全	溶胶时，时间适当延长，期间振荡混匀几次，确保溶化完全
	胶块过多	每管中凝胶应当小于 300mg
	溶液 C 中没有加入无水乙醇	确保溶液 C 中加入无水乙醇
	洗脱液使用不当	确保使用试剂盒提供的溶液 C
	洗脱不充分	确保足够洗脱时间和溶液 D 用前 50℃ 预热
	电泳缓冲液 pH 过高	确保待测样品电泳时使用新鲜缓冲液
	样品过少，浓度过低	加大样品用量
回收产物 无法进行 后续实验	乙醇残留	室温低时，可适当延长晾干时间，或放入 37℃ 温箱中晾干
	盐残留	确保洗涤液用量和洗涤两次，每次离心将液体离尽。