

小量 DNA 快速回收试剂盒

一、产品简介

本试剂盒适合从TAE、TBE琼脂糖凝胶中回收DNA；也适合从各种DNA反应液中回收DNA，能有效去除酶蛋白、引物、引物二聚体、单核苷酸、染料和无机盐等杂质。获得的DNA适用于酶切、连接、PCR和测序等分子生物学实验。

方法简便，只需溶胶或调整结合条件→结合→洗涤→甩干乙醇→洗脱5个步骤。以平行处理4个样品为例，从琼脂糖凝胶中回收DNA只需20分钟；从PCR产物中回收DNA只需10分钟。

有效回收DNA长度范围100 bp-15 kb，最大回收量20 µg，回收率为60-90%，最小洗脱体积50 µl。

有效回收量与起始样品量

本试剂盒有效回收量为4-20 µg双链DNA。起始目的DNA量偏高或偏低都会降低回收率。

PCR产物估算方法：通常PCR体系中上下游引物浓度各0.2 µM，理想条件下50%引物转化为目的产物，即0.1 µM；

100 bp目的产物为6.6 ng/µl；500 bp目的产物为33 ng/µl；1 kb目的产物为66 ng/µl，以此类推。

质粒酶切产物估算方法：目的DNA量= 起始质粒DNA量 × 酶切后目的DNA长度 ÷ 质粒DNA长度

质粒DNA的纯度、构型和酶切效率会影响起始DNA量的估算。

二、试剂盒组成和储存

组成内容	DK405-01 (50 次)
Buffer PG [□]	25 ml
Buffer WB3 [§]	16 ml
DNA 吸附柱-A20	50 个
收集管	50 个×2
1.5ml 离心管(用于洗脱)	50 个
TE [*]	15 ml
说明书	1 份

[□]Buffer PG：储存温度低于10℃时，可能会析出不溶物，需37-56℃加热溶解；不能使用更高温度加热，不然试剂瓶会变形。

[§]Buffer WB3：第一次使用前，按试剂瓶所示体积加入无水乙醇，混合均匀。

^{*}TE：10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, 0.025% NaN₃, pH 8.0(25℃)。

所有组成成分于室温储存。

三、产品选择指南

小量 DNA 纯化&回收系列试剂盒预期回收率，**3**为 DK405 预期回收率



1 DK414 小片段 DNA 小量纯化试剂盒

特别适合从各种 DNA 反应液中回收小分子 DNA，不能去除引物二聚体

2 DK403 琼脂糖凝胶 DNA 小量回收试剂盒

从琼脂糖凝胶中回收 DNA，有效回收范围 50 bp-15 kb

3 DK405 小量 DNA 快速回收试剂盒

从琼脂糖凝胶中回收 DNA，有效回收范围 100 bp-15 kb
从各种 DNA 反应液中回收 DNA，有效去除引物二聚体

4 DK411 DNA产物小量纯化试剂盒

从各种 DNA 反应液中回收 DNA；有效回收范围 100 bp-10 kb，有效去除引物二聚体

四、注意事项

1. Buffer PG 含刺激性化合物，避免沾染皮肤、眼睛和衣服、谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛，应立即使用大量水或生理盐水冲洗沾染处，必要时寻求医疗咨询。
2. 使用后应及时盖紧试剂瓶盖，以免影响下次使用效果，尤其是添加乙醇后的 Buffer WB3。
3. 建议使用 TAE 电泳分离 DNA，因 TBE 中的硼酸与琼脂糖生成非共价结合的四羟基硼酸盐复合物而降低 DNA 回收率和纯度。
4. 凝胶中含有 EB 等核酸染料，操作步骤 1-2 应避免皮肤、衣服和实验器材接触凝胶和融化的凝胶；操作步骤 2 离心结束后更换收集管能降低沾染核酸染料的风险。
5. 如回收的 DNA 后续用于连接和转化，建议将 TE 稀释 10 倍后用作洗脱液。TE 中含有 0.025% NaN_3 ，会抑制细菌生长。

五、实验准备

1. 从琼脂糖凝胶中回收 DNA，需准备 55-60℃ 水浴或温箱。
2. 储存温度低于 10℃ 时，Buffer PG 可能会析出不溶物，需 37-56℃ 加热溶解；不能使用更高温度加热，不然试剂瓶会变形。
3. 55-60℃ 预热 TE 或去离子水($\text{pH} \geq 7.0$)。
4. 第一次使用前，按试剂瓶所示体积在 Buffer WB3 中加入无水乙醇，混合均匀。

六、操作步骤

所有离心时间按使用台式快速离心机设定，通常 10 秒内可达最高转速/离心力；如使用慢升速离心机，离心时间需延长 30 秒。

所有离心条件为室温，12,000-16,000 \times g；如离心机只能设定转速，设定为低于最高转速 1,000 rpm。

1. 溶胶/调整结合条件

A. TAE/TBE 琼脂糖凝胶

A1. 切下含目的 DNA 的凝胶，称取凝胶重量，该重量作为一个凝胶体积。例如：100 mg = 100 μl 体积。

A2. 加入 2 个凝胶体积的 Buffer PG，放入 55-60℃ 水浴或温箱，温育期间至少摇晃混合一次，直至凝胶完全融化（约 5-10 min）。继续操作步骤 2；

- ▲ Buffer PG 体积偏差 -20%~+50% 不影响使用效果，例如：100mg 凝胶可加入 160~300 μl Buffer PG。
- ▲ 为保证凝胶完全融化，温育期间摇晃混合后无论是否观察到未融化的凝胶，至少继续温育 2 min。

B. 各种 DNA 反应液

B1. 估算 DNA 反应液体积，加入 3 倍体积的 Buffer PG，混合均匀；继续操作步骤 2；

- ▲ 回收 ≤ 250 bp 小片段 DNA，加入 1 倍体积异丙醇可提高回收率。
- ▲ 无需去除 DNA 反应液中的石蜡油；Buffer PG 体积偏差 -20%~+50% 不影响使用效果，例如：100 μl 反应液可加入 240~450 μl Buffer PG。

2. 将溶液转入 DNA 吸附柱-A20(置于收集管)，离心 1 min，丢弃收集管，将 DNA 吸附柱-A4 放入另一个干净的收集管中。

DNA 吸附柱-A20 最大柱体积为 750 μl ，如溶液体积 > 750 μl 应分次过柱；

3. 加入 500 μl Buffer WB3，离心 1 min，弃滤液，将 DNA 吸附柱-A4 放回收集管中。

4. 重复步骤 3。

5. 离心 2 min。

6. 将 DNA 吸附柱-A20 转入试剂盒携带的 1.5 ml 离心管中，在硅胶膜中央加 ≥ 50 μl TE 或去离子水($\text{pH} \geq 7.0$)，离心 1 min。

- ▲ 55-60℃ 预热 TE 或去离子水($\text{pH} \geq 7.0$)，可以提高洗脱效率。
- ▲ 如使用去离子水洗脱，需用 NaOH 将去离子水 pH 调整至 ≥ 7.0 。
- ▲ 目的片段 DNA 长度 $\geq 3\text{kb}$ ，建议重复洗脱，以提高洗脱效率。重复洗脱的两种方法：
 - a. 洗脱的 DNA 溶液转入 DNA 吸附柱中进行洗脱，获得的 DNA 浓度高于方法 b；
 - b. 重新加入洗脱液进行洗脱，洗脱效率高于方法 a。