

DNA胶回收SOP

1.仪器设备

名称	型号
拍胶仪	JY04S-3C
三孔三温水槽	DK-8D

2.实验试剂

名称	供应商货号
胶回收试剂盒	D2500-02

3.DNA胶回收操作方法

(1) 割胶（尽量割取目的片段），加入Binding Buffer将胶淹没即可，放入50℃水浴锅中使其溶解，再静置至室温。

注：如果是溶液回收，直接向溶液中加入2倍体积的Binding Buffer，混匀即可。

- (2) 将液体转移至吸附管中，室温静置5 min，12000 rpm离心1 min，弃废液；
- (3) 向吸附管中加入300 μ l Binding Buffer，12000 rpm离心1min，弃废液；
- (4) 向吸附管中加入700 μ l Wash Buffer，12000 rpm离心1min，弃废液；
- (5) 重复步骤4一次；
- (6) 空管离心，12000 rpm离心2 min，弃废液；
- (7) 将吸附管放置在新的1.5 mL EP管中，于超净工作台中开盖晾干6-8 min；
- (8) 晾干后向吸附管膜中间滴加适量预热Elution Buffer，放置2-3 min，12000 rpm离心2 min；
- (9) 将EP管中的回收液重新滴加至吸附管膜中间，12000rpm离心2min，做好标记，4℃保存。
- (10) DNA浓度及纯度检测：回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度和纯度，DNA应在OD260处有显著吸收峰，OD260值为1相当于大约50 μ g/ml 双链DNA、40 μ g/ml 单链DNA。OD260/OD280比值应为1.7-1.9。

附：

琼脂糖凝胶电泳缓冲液50xTAE buffer配制方法：

组分浓度 2M Tris-醋酸，100mM EDTA

配置量 1L

配置方法：

- (1) 称量下列试剂，置于1L烧杯中。Tris，242g；Na₂EDTA·2H₂O，37.2g。
- (2) 向烧杯中加入约800 ml的去离子水，充分搅拌溶解。
- (3) 加入57.1ml的醋酸，充分搅拌。
- (4) 加去离子水将溶液定容至1L后，室温保存。