



多功能DNA纯化回收试剂盒

Multifunction DNA Purification Kit

产品信息:

| 试剂盒组成 | 保存 | DH103-01 | DH103-02 |
|-----------|----|-------------------------|----------|
| | | 100 次 | 200 次 |
| 溶胶/结合液 DB | 室温 | 100ml | 100 ml×2 |
| 漂洗液 WB | 室温 | 25ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇 | 25ml×2 |
| 洗脱缓冲液 EB | 室温 | 15ml | 10ml×2 |
| 吸附柱 EC | 室温 | 100 个 | 200 个 |
| 收集管 (2ml) | 室温 | 100 个 | 200 个 |

保存条件: 本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

产品介绍:

在高离子盐存在的情况下，DNA 片断选择性的吸附于离心柱内的硅基质膜上，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，漂洗液将引物、核苷酸、蛋白、酶等杂质去除，最后低盐、高 pH 值的洗脱缓冲液将纯净 DNA 从硅基质膜上洗脱。

产品特点:

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。
2. 使用了优质溶胶液，不含传统溶胶液的碘化钠和高氯酸盐，不抑制回收后酶切、连接克隆等下游反应。
3. 独特的溶胶液/结合液配方，将溶胶和结合两种功能统一，因此一个试剂盒可以运用于琼脂糖 DNA 回收、PCR 产物清洁纯化、酶切产物纯化回收等多种情况，节省了需购买多种试剂盒的费用。
4. 溶胶液/结合液调制成为了黄颜色，便于观察溶胶效果和监测 pH 值变化从而达到最佳结合效果，大大提高回收效率。
5. 简单快速、使用方便。

适用范围:

适用于琼脂糖凝胶 DNA 回收、PCR 反应产物纯化回收、酶切产物 DNA 片断纯化回收、探针标记后纯化回收、DNA 样品浓缩等。

注意事项:

1. 所有的溶液应该是澄清的，如果环境温度低时溶液可能形成沉淀，此时不应该直接使用，可在 37℃ 水浴加热几分钟，即可恢复澄清。使用前应该恢复到室温。
2. 储存于低温（4℃ 或者 -20℃）会造成溶液沉淀，影响使用效果，因此运输和储存均在室温下（15℃-25℃）进行。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
4. 溶胶液/结合液中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，**避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要立即用大量清水或者生理盐水冲洗。**回收纯化的 DNA 片段一般在 100bp 到 40kb 之间，过长、过短片段的回收效率迅速降低。
5. 回收 DNA 的量和起始 DNA 的量、洗脱体积、DNA 片断大小有关。一般 1-20μg，100bp-5kb 的 DNA 片段，回收率可高达 85% -95%。
6. 切胶回收时，紫外灯观察对 DNA 片段有损坏作用，应该尽可能使用能量低的长波紫外线，并且尽可能的缩短紫外线下处理的时间。
7. pH 值 ≤ 7.5 时，吸附膜吸附 DNA 的效率最高。如果切下来的凝胶中含有电泳缓冲液太多，造成溶胶后溶胶液 pH 偏高，会导致回收率降低。溶胶后，如果溶胶液依旧保持黄色，说明 pH 正常；如果变成橘红色或者淡紫色，说明 pH 偏高，可在胶充分溶解后加 5-10μl 3M 醋酸钠 (pH5.2) 将 pH 值调到 5-7 (黄色)。
8. 洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA，不影响下游酶切、连接等反应。**也可以使用水洗脱，但应该确保 pH 大于 7.5**，pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱，DNA 片段应该保存在 -20℃。DNA 片段如果需要长期保存，可以用 TE 缓冲液洗脱 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0)，但是 EDTA 可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。

自备试剂: 无水乙醇

操作步骤:

提示: 第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇, 加入后请及时打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入!

1.琼脂糖凝胶 DNA 回收:

- 1) 在长波紫外灯下, 用干净刀片将所需回收的 DNA 条带切下, 尽量切除不含 DNA 的凝胶, 得到凝胶体积越小越好。
- 2) 将切下的含有 DNA 条带凝胶放入 1.5ml 离心管, 称重。
- 3) 加 3 倍体积溶胶/结合液 DB。(凝胶重为 100mg, 则加入 300 μ l 溶胶液) 如果凝胶浓度大于 2%, 应加入 6 倍体积溶胶液。
- 4) 56 $^{\circ}$ C 水浴放置 10min (或直至胶完全溶解)。每 2-3min 涡旋震荡一次帮助加速溶解。
- 5) 将上一步所得溶液加入吸附柱 EC 中 (吸附柱放入收集管中), 室温放置 1min, 12,000rpm 离心 30-60sec, 倒掉收集管中的废液。
- 6) 加入 500 μ l 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心 30sec, 弃掉废液。
- 7) 重复操作步骤 6。
- 8) 将吸附柱 EC 放回空收集管中, 12,000rpm 离心 2min, 尽量去除漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
- 9) 取出吸附柱 EC, 放入一个干净的离心管中, 室温放置数分钟。
- 10) 在吸附膜的中间部位滴加洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中加热效果更好), 室温放置 2min, 12,000rpm 离心 1min。如果需要较多量 DNA, 可将得到的溶液重新加入吸附柱中, 离心 1min。(注意: 洗脱体积不应小于 30 μ l, 体积过少影响回收效率)

2.PCR 产物或者酶切片段等 DNA 纯化:

- 1) 每 100 μ l PCR 扩增后体系或者酶切后体系加入 500 μ l 溶胶/结合液 DB, 充分混匀。(如果初始体系小于 100 μ l, 请事先用双蒸水调整至 100 μ l)。
- 2) 将上一步所得溶液加入吸附柱 EC 中 (吸附柱放入收集管中), 室温放置 1min, 12,000rpm 离心 30-60sec, 倒掉收集管中的废液。
- 3) 从此步骤开始和琼脂糖凝胶 DNA 回收的操作步骤 6-10 完全一致, 请参见琼脂糖凝胶 DNA 回收的操作步骤 6-10。