

通用DNA纯化回收试剂盒

Universal DNA Purification Kit



产品信息:

试剂盒组成	保存	DH107-01 100 次
溶胶/结合液 DB	室温	50ml
漂洗液 WB	室温	25ml 第一次使用前加入 100ml 无水乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml
微量 DNA 吸附柱 (5μg)	室温	100 个
收集管 (2ml)	室温	100 个
离心管 (1.5ml)	室温	50×2

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 片段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.独特的吸附柱设计，消除了液体残留及污染，并且洗脱体积最低可至 5μl。
- 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.可回收 50bp-25kb 片段，每个吸附柱可吸附 DNA 量为 5μg。

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 片段

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。**
- 5.回收纯化的 DNA 片段一般在 50bp 到 25kb 之间，过长、过短片段的回收效率迅速降低。回收 DNA 的量和起始 DNA 的量、洗脱体积、DNA 片段大小有关，一般为 5μg。100bp-5kb 的 DNA 片段，回收率可高达 85%-95%。大于 10kb 的 DNA 片段，可减少洗脱体积，提高浓度。
- 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（pH 5.2）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 或 2ml 离心管。
- 3) 加 500μl 体积溶胶/结合液 DB。（**胶块与溶胶/结合液比例 1:1 至 1:5，回收率不**

受影响。)

4) 50℃水浴放置 10min (或直至胶完全溶解)。期间不断温和地上下翻转离心管, 以确保胶块充分溶解。

5) 将上一步所得溶液加入微量 DNA 吸附柱中(吸附柱放入收集管中), 室温放置 1min, 12,000rpm 离心 1min, 倒掉收集管中的废液。

6) 加入 500μl 漂洗液 WB (**请先检查是否已加入无水乙醇!**), 12,000rpm 离心 1min, 弃掉废液。

7) 重复操作步骤 6。

8) 将微量 DNA 吸附柱放回空收集管中, 12,000rpm 离心 1min, 尽量去除漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

9) 取出微量 DNA 吸附柱, 放入一个新的离心管 (1.5ml) 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 10μl (洗脱缓冲液事先在 65-70℃ 水浴中加热效果更好), 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: 洗脱体积一般为 10μl, 根据样品浓度, 洗脱体积 5μl 至 50μl 均可。**)

2. PCR 产物或者酶切片段等 DNA 纯化:

1) 每 100μl PCR 扩增后体系或者酶切后体系加入 500μl 溶胶/结合液 DB, 充分混匀。 (**产物与溶胶/结合液比例 1:1 至 1:5, 回收率不受影响。**)

2) 将上一步所得溶液加入微量 DNA 吸附柱中(吸附柱放入收集管中), 室温放置 1min, 12,000rpm 离心 1min, 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。

BM230724