

版本号: DP130227

Universal DNA Purification Kit

通用型DNA纯化回收试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP214

产品内容

产品组成	DP214-02 (50 preps)	DP214-03 (200 preps)
溶液PC (Buffer PC)	25 ml	100 ml
平衡液BL (Buffer BL)	30 ml	120 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液EB (Buffer EB)	15 ml	30 ml
吸附柱CB2 (Spin Columns CB2)	50个	200个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个	200个

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于 2-8°C。2-8°C 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37°C 水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒采用独特的离心吸附柱，既能从TAE或TBE琼脂糖凝胶中回收DNA片段，又能用于直接纯化PCR产物，满足多种实验需要。溶液PC中含有pH指示剂，可根据颜色来判断溶胶或PCR产物回收是否达到最佳状态。使用本产品可回收100 bp-8 kb大小的DNA片段，回收率可达80%，大于8 kb的DNA片段纯化建议使用我公司的琼脂糖凝胶回收试剂盒DP208/209或DNA产物纯化试剂盒DP203/204。每个离心吸附柱每次可吸附的DNA量为10 µg。

使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 平衡液BL的加入能够改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性，消除高温/潮湿或其他不良环境因素对吸附柱造成的影响。使用前请先检查平衡液BL是否出现浑浊，如有混浊现象，可在37°C水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。
2. 溶液PC含有pH指示剂，为黄色，指示pH≤7.5。

操作步骤

使用前请先在漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

一、从琼脂糖凝胶中回收DNA片段

1. 柱平衡步骤：向吸附柱CB2中（吸附柱放入收集管中）加入500 µl平衡液BL，12,000 rpm (~13,400×g)离心1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。（请使用当天处理过的柱子）
 2. 将单一的目的DNA条带从琼脂糖凝胶中切下（尽量切除多余部分）放入干净的离心管中，称取重量。
-

-
3. 向胶块中加入等倍体积溶液PC（如果凝胶重为0.1 g，其体积可视为100 μl ，则加入100 μl PC溶液），50°C水浴放置10 min左右，其间不断温和地上下翻转离心管，以确保胶块充分溶解。（若胶块的体积过大，可事先将胶块切成碎块）。

注意：对于回收<150 bp的小片段可将溶液PC的体积增加到3倍以提高回收率；胶块完全溶解后最好将溶液温度降至室温再上柱，因为吸附柱在室温时结合DNA的能力较强。凝胶完全融解后应呈现黄色，即可进行后续操作。如果胶完全融解后溶液的颜色为桔红色或紫色，请使用10 μl 3M乙酸钠（pH 5.0）将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。

（溶液PC中含有pH指示剂，当pH \leq 7.5时溶液的颜色为黄色，此时DNA才能够有效的与膜结合，当pH值偏高时溶液的颜色变为桔红色和紫色，需要进行调整。）

4. 将上一步所得溶液加入一个吸附柱CB2中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB2放入收集管中。
5. 向吸附柱CB2中加入600 μl 漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB2放入收集管中。

注意：如果回收的DNA是用于盐敏感的实验，例如平末端连接实验或直接测序，建议PW加入后静置2-5 min再离心。

6. 重复操作步骤5

7. 将吸附柱CB2放入收集管中，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min，尽量除去漂洗液。将吸附柱置于室温放置数分钟，彻底晾干。

注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

8. 将吸附柱CB2放入一个干净离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加适量的洗脱缓冲液EB，（如果回收的目的片段>4 kb，则洗脱缓冲液EB应置于65-70°C水浴预热），室温放置2 min。12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min，收集DNA溶液。

注意：洗脱液的体积不应少于30 μl ，体积过少会影响回收的效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有较大影响。若后续做测序，需使用ddH₂O做洗脱液，并保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20°C，以防DNA降解。为了提高DNA的回收量，可将离心得到的溶液重新加回离心吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm(~13,400 \times g)离心2 min，将DNA溶液收集到离心管中。

二、从PCR反应液或酶切反应液中回收DNA

1. 柱平衡步骤：向吸附柱CB2中（吸附柱放入收集管中）加入500 μl 的平衡液BL，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。（**请使用当天处理过的柱子**）

2. 估计PCR反应液或酶切反应液的体积，向其中加入等倍体积溶液PC，充分混匀（无需去除石蜡油或矿物油）。

注意：对于回收<150 bp的小片段可将溶液PC的体积增加到3倍以提高回收率；溶液混匀后应呈现黄色，即可进行后续操作。如果溶液的颜色为桔红色或紫色，请使用10 μl 3M乙酸钠（pH 5.0）将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。

3. 将上一步所得溶液加入一个吸附柱CB2中（吸附柱放入收集管中），室温放2 min，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

注意：吸附柱容积为800 μl ，若样品体积大于800 μl 可分批加入。

4. 向吸附柱CB2中加入600 μl 漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB2放入收集管中。

注意：如果纯化的DNA是用于盐敏感的实验，例如平末端连接实验或直接测序，建议PW加入后静置2-5 min再离心。

5. 重复操作步骤4.

6. 将吸附柱CB2放回收集管中，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心2 min，尽量除去漂洗液。将吸附柱CB2置于室温放置数分钟，彻底地晾干。

注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

7. 将吸附柱CB2放入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加适量的洗脱缓冲液EB，（如果回收的目的片段>4 kb，则洗脱缓冲液EB应置于65-70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴预热），室温放置2 min。12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心2 min收集DNA溶液。

注意：洗脱液的体积不应少于30 μl ，体积过少会影响回收的效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有较大影响。若后续做测序，需使用ddH₂O做洗脱液，并保证其pH值在7.0-8.5范围内，且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}\text{C}$ ，以防DNA降解。为了提高DNA的回收量，可将离心得到的溶液重新加回离心吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$)离心2 min，将DNA溶液收集到离心管中。
