

DNA纯化试剂盒

Universal DNA Purification Kit

本试剂盒适合从各种琼脂糖凝胶中回收DNA片段，也可用于直接纯化PCR产物，满足多种实验需要。本产品适合回收100bp-8kb大小的DNA片段，可达80%的回收率。每个离心吸附柱每次最多可吸附的DNA量为10μg。纯化的DNA纯度高，并保持片段完整性和高生物活性，可用于PCR、测序、酶切、连接、转化、文库筛选等实验操作。

试剂盒组成

Cat.No.	KIT-DNA-50	KIT-DNA-250
Buffer B	30ml	140ml
Buffer C	25ml	125ml
Buffer W	15ml	35ml x 2
Buffer E	15ml	40ml
吸附柱&回收管	50个	250个
说明书	1	1

储存条件

试剂盒于常温运输，未开启的试剂盒可以于室温(15-25℃)干燥条件下保存12个月。如需更长的保存时间，可将试剂盒置于2-8℃。

2-8℃保存条件下，溶液可能产生沉淀，需在使用前将试剂盒内的溶液在室温静置一段时间，或在37℃水浴中预热10min，即可溶解沉淀。

注意事项 请务必在使用前仔细阅读此注意事项。

1.实验前使用Buffer B处理吸附柱，可以最大限度激活硅基质膜，提高得率。用Buffer B处理过的柱子最好当天使用，放置时间过长会影响效果。使用前请先检查Buffer B是否出现浑浊，有混浊现象，可在37℃水浴中预热10min，即可恢复澄清。

2.将凝胶切成细小的碎块可大大缩短凝胶熔化时间(线型DNA长时间暴露在高温条件下易于水解),从而提高回收率。勿将含DNA的凝胶长时间地暴露在紫外灯下,以减少紫外线对DNA造成的损伤。

3.所有离心步骤均为使用常规台式离心机室温下进行离心,速度为12,000rpm (~13,400×g)。

4.Buffer C含有pH指示剂,当pH≤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。

◎ 操作步骤

从琼脂糖凝胶中回收DNA片段

1.柱平衡步骤:向吸附柱中(吸附柱放入收集管中)加入500μl的Buffer B, 12,000 rpm (~13,400×g)离心1min, 弃废液,将吸附柱重新放回收集管中。(请使用当天处理过的柱子)。

2.在紫外灯下切下含有目的DNA的琼脂糖凝胶,放入干净离心管中,计算凝胶重量。

3.加入与凝胶等体积的Buffer C,若凝胶重量为0.1g,其体积记为100ul,则加入100ul的Buffer C。混合均匀后于50℃ 加热10min左右,间断混合(每2-3min),直至凝胶块完全熔化。

*凝胶完全融解后应呈现黄色,即可进行后续操作。如果凝胶完全融解后溶液为桔红色或紫色,请使用10μl 3M乙酸钠(pH5.0)将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。

*如果回收片段<150bp,可将Buffer C的体积增加到3倍以提高回收率。

4.吸取步骤3中的混合液,转移到吸附柱中(置于2ml离心管), 12,000rpm (~13,400×g), 离心1min。弃滤液。

5.将吸附柱放回2ml离心管,加600μl Buffer W, 12,000rpm(~13,400×g)离心1min,弃滤液。

*确认在Buffer W中已按试剂瓶上的指定体积加入无水乙醇。

6.重复步骤5。

7.将吸附柱放回2ml离心管, 12,000rpm (~13,400×g)离心2min, 尽量除去漂洗液。

*Buffer W中乙醇的残留可能会影响后续酶切、PCR等实验。建议将吸附柱开盖室温放置几分钟,彻底晾干吸附柱中残余的漂洗液。

8.将吸附柱移入新的1.5ml离心管中,在吸附柱膜中央加30μl Buffer E或去离子水,室温静置2min。12,000rpm (~13,400×g) 离心2min将质粒溶液收集到离心管中。

*加入Buffer E的体积不应少于30ul, 体积过小影响回收效率。

*若后续做测序,需用去离子水做洗脱液,并保证其pH值在7.0-8.5范围内, pH值低于7.0会降低回收效率。

*将 Buffer E或去离子水加热至65℃可提高回收效率。

*可将得到的溶液重新加入吸附柱中,室温放置2min, 12,000rpm (~13,400×g) 离心2min将质粒溶液收集到离心管中。

从PCR产物或酶切产物中回收DNA片段

1.柱平衡步骤:向吸附柱中(吸附柱放入收集管中)加入500μl的Buffer B, 12,000 rpm (~13,400×g)离心1min, 弃废液,将吸附柱重新放回收集管中。(请使用当天处理过的柱子)。

2.根据PCR反应液或酶切反应液的体积,加入等体积的Buffer C,充分混合均匀。

*凝胶完全融解后应呈现黄色,即可进行后续操作。如果凝胶完全融解后溶液为桔红色或紫色,请使用10μl 3M乙酸钠(pH5.0)将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。

*如果回收片段<150bp,可将Buffer C的体积增加到3倍以提高回收率。

3.吸取步骤2中的混合液,转移到吸附柱中(置于2ml离心管),室温放置2min, 12,000 rpm (~13,400×g), 离心1min。弃滤液。

4.将吸附柱放回2ml离心管,加600μl Buffer W, 12,000rpm (~13,400×g)离心1min,弃滤液。

*确认在Buffer W中已按试剂瓶上的指定体积加入无水乙醇。

5.重复步骤4。

6.将吸附柱放回2ml离心管, 12,000rpm(~13,400×g)离心2min, 尽量除去漂洗液。

*Buffer W中乙醇的残留可能会影响后续酶切、PCR等实验。建议将吸附柱开盖室温放置几分钟,彻底晾干吸附柱中残余的漂洗液。

7.将吸附柱移入新的1.5ml离心管中,在吸附柱膜中央加30μl Buffer E或去离子水,室温静置2min。12,000rpm (~13,400×g) 离心 2min将质粒溶液收集到离心管中。

*加入Buffer E的体积不应少于30ul, 体积过小影响回收效率。

*若后续做测序,需用去离子水做洗脱液,并保证其pH值在7.0-8.5范围内, pH值低于7.0会降低回收效率

*将 Buffer E或去离子水加热至65℃可提高回收效率。

*可将得到的溶液重新加入吸附柱中,室温放置2min, 12,000rpm (~13,400×g) 离心2min将质粒溶液收集到离心管中。