

产品说明书

产品名称: Universal DNA Gel / PCR Purification Kit (DNA 纯化回收试剂盒)

产品货号: BN12022

产品规格: 50T, 100T

应用范围: DNA胶回收, PCR or 酶切产物纯化

产品简介

本试剂盒用于从琼脂糖凝胶中快速、可靠地回收DNA, 从PCR、RFLP、磷酸化、标记、连接、杂交及其他酶促反应中纯化DNA片段。100bp至20kb的DNA片段可通过Mini Column可纯化得到, 回收率在50~90%。

产品构成

组分	50T	100T
Preps	50	100
Mini Columns	50	100
2 mL Collection Tubes	50	100
1.5 mL Microfuge Tubes	50	100
Buffer GC-A	25 mL	50 mL
Buffer GC-B	25 mL	50 mL
DNA Wash Buffer*	15 mL	2x15 mL
Elution Buffer	10 mL	15 mL
User Manual	1	1

要点

- DNA Wash Buffer: 使用前将60 mL 96-100% 乙醇加入至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。
- 100 mg 的凝胶相当于 100 μ L 体积。
- Buffer GC-A/B: 低温易产生沉淀, 使用前请于 37°C 水浴加热至沉淀完全溶解。
- 65°C 预热 Elution Buffer 或 ddH₂O。
- 所有操作步骤 (包括离心) 均在室温下进行。

产品贮存及稳定性

本试剂盒自购买之日起可保存 12 个月。所有试剂及用品可保存于室温 (15-25°C)。

实验前需准备的材料

- 小型台式离心机和 1.5 mL 离心管
- 55~65°C 水浴锅
- 负压装置
- 96~100% 乙醇
- 异丙醇 (对于 200 bp 以下片段的回收)

本产品仅用于科研

TEL: 010-62960866 www.biorigin.Ltd

操作步骤（离心法）

1 **琼脂糖凝胶产物纯化**：从凝胶上割下带有目的片段的凝胶到一个 1.5 mL 或 2.0 mL 离心管（称量估算凝胶的体积，确保加入不少于 1 倍体积的 Buffer GC-A），加入 1 倍体积的 Buffer GC-A，置于 55~60℃ 水浴 8~10 min，期间颠倒混匀几次，直至凝胶完全融化，冷却离心管至室温。

PCR 产物纯化：加入 2 倍体积的 Buffer GC-B（如 100 μ L 的 PCR 反应液，加入 200 μ L Buffer GC-B），混合均匀，瞬时离心，将溶液收集到管底。

注：纯化 200 bp 以下的 PCR 产物，加入 5 倍体积的 Buffer GC-A/B 到 1 倍体积的 PCR 反应液。100 mg 的凝胶相当于 100 μ L。200 bp 以下片段的纯化，请加入 1 倍体积的异丙醇。

2 转移上述混合液（每次不超过 700 μ L）至一个 Mini Column（自带 2 mL Collection Tube），12,000 rpm 离心 1 min，弃滤液，将 Mini Column 放回 2 mL Collection Tube。重复此步骤至所有样品通过。

3 加入 600 μ L DNA Wash Buffer，12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将 Mini Column 放回 2 mL Collection Tube。

4 重复步骤 3。

注：确保使用前按要求加入乙醇至 DNA Wash Buffer 瓶内。

5 **可选：琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 600 μ L 无水乙醇，12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将 Mini Column 放回 2 mL Collection Tube。

注：如果纯化的 DNA 产物用于对盐敏感的应用（如测序、平末端连接），建议采用此步骤。。

6 打开 Mini Column 盖子，12,000 rpm 离心 2 min，去除残留的乙醇。

注：开盖离心更有利于乙醇的去除。

7 转移 Mini Column 至一个 1.5 mL Microfuge Tube，在膜中央加入 30~100 μ L Elution Buffer（65℃ 预热）或 ddH₂O（pH 在 7.0~8.5），静置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min 洗脱 DNA。

可选：将洗脱下来的液体重新上柱，二次洗脱。

注：将 Elution Buffer 或 ddH₂O 置于 65℃ 预热，或加入洗脱液后将 Mini Column 置于 65℃ 静置 5 min 再进行洗脱，将会显著提高 DNA 回收率。

注：对于 8 kb 以上的片段，加入洗脱液后将 Mini Column 置于 65℃ 静置 5 min。

注：第一次洗脱通常得到 60~70% 左右的 DNA。二次洗脱有利于回收剩下 20% 的 DNA。

操作步骤（负压/离心法）

1 按照离心法中步骤 1 操作。瞬时离心以收集所有液体至管底。

2 根据制造商指南安装负压设备，将 Mini Column 连接到负压装置上。

3 小心转移混合液至 Mini Column 中，打开负压装置，允许液体通过柱子。

4 加入 600 μ L DNA Wash Buffer，打开负压装置 1 min。

5 重复步骤 4。

6 **可选：琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 600 μ L 无水乙醇，12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将 Mini Column 放回 2 mL Collection Tube。

7 打开负压装置，干燥空柱子 5 min。

8 将 Mini Column 转移至一个 1.5 mL Microfuge Tube，在膜中央加入 30~100 μ L Elution Buffer 或 ddH₂O，静置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min 洗脱 DNA。

注：将 Elution Buffer 或 ddH₂O 置于 65℃ 预热，或加入洗脱液后将 Mini Column 置于 65℃ 静置 5 min 再进行洗脱，将会显著提高 DNA 回收率。

注意：第一次洗脱通常得到 60~70% 左右的 DNA。二次洗脱有利于回收剩下 20% 的 DNA。

常见问题解答

问题	可能原因	建议
低得率	Buffer GC-A/B加入量不够	根据要求加入一定量的 Buffer GC-A/B。
	琼脂糖凝胶没有彻底融化	确保水浴温度在 55~60℃，若有必要增大 Buffer GC-A 的量。
	电泳缓冲液重复利用导致 pH 偏高	使用新鲜的电泳缓冲液。
	片段小于 200bp	按要求加入异丙醇。
	片段大于 10 kb	加入洗脱液后，将柱子于 65℃ 预热 15 min 再洗脱。
没有回收到 DNA	忘记在 DNA Wash Buffer 瓶内加入乙醇	使用前按要求加入乙醇至 DNA Wash Buffer 瓶内。
点样时 DNA 飘出点样孔	漂洗后乙醇没有完全去除干净	DNA Wash Buffer 漂洗后，开盖空离柱子，离心 1~3 min，重复一次。
柱子堵塞	琼脂糖凝胶没有完全融化	上柱前确保凝胶于 55~60℃ 融化。