

版本号: DP210831

## 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<br>(50 preps) | DP214-03<br>(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                    |
| 切胶器 (Gel Cutter)                     | 5个                     | 20个                     |

#### 储存条件

该试剂盒所有组分置于室温 (15-30℃) 干燥条件下, 可保存12个月。若溶液产生沉淀, 使用前可在37℃水浴中预热10min以溶解沉淀, 不影响效果。

## 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℃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 $\text{pH} \leq 7.5$ 。

## 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。

注意：使用切胶器（OSE-GC）切胶时，切胶器口对准琼脂糖凝胶中的DNA条带下压切割。切胶完成后，推动中心杆，将胶块推入干净的离心管中。根据凝胶胶孔宽度可进行单次和连续切割。具体操作可通过扫描右侧二维码了解。



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  $\mu\text{l}$ ，则加入100  $\mu\text{l}$  PC溶液。使用切胶器切割1%的琼脂糖凝胶，单块重量约为0.06 g，实际胶块重量与凝胶浓度及厚度相关），50℃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  $\mu\text{l}$  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 $\text{pH} \leq 7.5$ 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  $\mu\text{l}$ 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℃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  $\mu\text{l}$ ，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ddH<sub>2</sub>O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℃，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。



TIANGEN官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

## 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  $\mu\text{l}$ 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  $\mu\text{l}$  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  $\mu\text{l}$ ，若样品体积大于800  $\mu\text{l}$ 可分批加入。

4. 向吸附柱CB2中加入600  $\mu\text{l}$ 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°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  $\mu\text{l}$ ，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ddH<sub>2</sub>O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°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。