



多功能 DNA 纯化回收试剂盒 (Universal DNA Purification Kit)

目录号: ZP204

试剂盒内容:

试剂盒组成	ZP204-01 (50 次)	ZP204-02 (100 次)	ZP204-03 (200 次)
多功能溶液	25 ml	50 ml	100ml
漂洗液 W2	15 ml	2×15 ml	4×15 ml
洗脱缓冲液 TE	15 ml	15 ml	30ml
吸附柱	50 个	100 个	200 个
收集管 (2 ml)	50 个	100 个	200 个
说明书	1 份	1 份	1 份

储存条件:

本试剂盒在室温 (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。(注意: 当低温贮存时, 使用前应先将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间, 必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟, 以平衡溶液温度。)

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。多功能溶液中含有 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%(100bp~8Kb), 大于 8kb 的 DNA 片段纯化建议使用我公司的琼脂糖凝胶回收试剂盒或 DNA 产物纯化试剂盒。

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. 多功能溶液中含有 pH 指示剂, 为桔黄色, 指示 $pH \leq 7.5$ 。若实验过程中溶液颜色发生变化, 请使用 10 μ 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。(多功能溶液中含有 pH 指示剂, 当 $pH \leq 7.5$ 时溶液的颜色为桔黄色, 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。)
2. 使用之前请按照瓶体标签提示在漂洗液 W2 中加入无水乙醇。

操作步骤:

一、从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段

1. 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。

- 向胶块中加入 2 倍体积多功能溶液 (如果凝胶重为 0.1 g , 其体积可视为 100 μ l , 则加入 100 μ l 多功能溶液), 55°C水浴放置 10 分钟左右, 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 的小片段可将多功能溶液的体积增加到 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 μ 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

- 将上一步所得溶液加入一个吸附柱中 (吸附柱放入收集管中), 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放入收集管中。
- 向吸附柱中加入 700 μ l 漂洗液 W2 (**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 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放入收集管中。重复此步骤一次。

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, 建议漂洗液 W2 加入后静置 2 - 5 分钟再离心。

- 将吸附柱放入收集管中, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟, 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。

- 将吸附柱放入一个干净离心管中, 向吸附膜中间位置悬空滴加 30 μ l-80 μ l 的洗脱缓冲液 TE, (**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 分钟。12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟, 收集 DNA 溶液。

注意: 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, 重复步骤 6。洗脱液的体积不应少于 30 μ 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。应保证其 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。

二、 从 PCR 反应液或酶切反应液中回收 DNA

- 估计 PCR 反应液或酶切反应液的体积, 向其中加入 2 倍体积多功能溶液, 充分混匀 (无需去除石蜡油或矿物油)。

注意: 对于回收 <150 bp 的小片段可将多功能溶液的体积增加到 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 μ 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。

- 将上一步所得溶液加入一个吸附柱中 (吸附柱放入收集管中), 室温放 2 分钟, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 1 分钟, 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 μ l, 若样品体积大于 800 μ l 可分批加入。

- 向吸附柱中加入 700 μ l 漂洗液 W2 (**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 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放入收集管中。重复此步骤一次。

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, 建议漂洗液 W2 加入后静置 2 - 5 分钟再离心。

- 将吸附柱放回收集管中, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟, 尽量除去漂洗液。将吸附柱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。

- 将吸附柱放入一个干净的离心管中, 向吸附膜中间位置悬空滴加 30 μ l-80 μ l 的洗脱缓冲液 TE, (**如果回收的目的片段 >4 kb, 则洗脱缓冲液 TE 应置于 65-70°C水浴预热**), 室温放置 2 分钟。12,000rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟收集 DNA 溶液。

注意: 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, 重复步骤 5。洗脱液的体积不应少于 30 μ 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。应保证其 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。