

通用型 DNA 纯化回收试剂盒

本试剂盒适合从琼脂糖凝胶中回收DNA（70 bp-10 Kb），回收量多至8 μ g，回收率为60~85%，琼脂糖凝胶在温和的缓冲液中熔化，其中保护剂能防止线状DNA在高温下讲解，然后在结合缓冲液作用下使DNA选择性的结合到膜上。纯化的DNA纯度高，并保持片段完整性和高生物活性，可直接用于连接、体外转录、PCR扩增、测序、微注射等分子生物学实验。

同时本试剂盒可以直接用于PCR产物、酶促反应、测序反应的反应液中提取DNA（大于75 bp），提取多至8 μ g，回收率为70~90%，纯化的DNA不含引物、酶蛋白及单核苷酸。

一、 试剂盒组成、贮存、稳定性

Cat. No.	UE-GX/PCR-10	UE-GX/PCR-50	UE-GX/PCR-250
Kit size	10 preps	50 preps	250 preps
Miniprep column	10	50	250
2 ml microfuge tube	10	50	250
1.5 ml microfuge tube	10	50	250
Buffer DE- A	12 ml	50 ml	230 ml
Buffer PCR- B	12 ml	50 ml	230 ml
Buffer W2 concentrate	5 ml	24 ml	2 \times 72 ml
Eluent	1 ml	5 ml	25 ml

Buffer DE-A: 凝胶熔化剂，含 DNA 保护剂，防止 DNA 在高温下降解。室温密闭贮存。

Buffer PCR-B: 结合液(促使大于 70 bp 的 DNA 片段选择性结合到 DNA 制备膜上)。室温密闭贮存。

Buffer W2 concentrate: 去盐液，使用前，按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇(用100%乙醇或95%乙醇)，混合均匀，室温密闭贮存。

Eluent: 洗脱液，室温密闭贮存。



二、注意事项

1. Buffer DE-A(含有 β -巯基乙醇)、Buffer PCR-B 含刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套和眼镜，避免沾染皮肤、眼睛和衣服，谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛时，要立即用大量清水或生理盐水冲洗，必要时寻求医疗咨询。
2. 在凝胶回收步骤1中，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，减少紫外线对 DNA造成的损伤。
3. 在凝胶回收步骤 2中，凝胶必须完全熔化，否则将严重影响 DNA 回收率。
4. 将 Eluent 或去离子水加热至 65°C，有利于提高洗脱效率。
5. DNA分子呈酸性，建议在 2.5 mM Tris-HCl, pH 7.0-8.5 洗脱液中保存。

三、实验准备

1. 第一次使用前，Buffer W2 concentrate中加入指定体积的无水乙醇。
2. 准备无核酸和核酸酶污染的Tip头、离心管。
3. 准备75°C水浴。

四、操作步骤

凝胶回收操作步骤

1. 在紫外灯下切下含有目的 DNA 的琼脂糖凝胶，用纸巾吸尽凝胶表面液体并切碎。计算凝胶重量(提前记录 1.5 ml离心管重量)，该重量作为一个凝胶体积(如 100 mg = 100 μ l 体积)。
2. 加入2个凝胶体积的 Buffer DE-A，混合均后于75°C加热(低熔点琼脂糖凝胶于 40°C 加热)，其间不断温和的上下混合(每 2-3 min)，直至凝胶块完全熔化(约6-8 min)。Buffer DE-A 为红色溶液。在熔化凝胶的过程中，可以帮助观察凝胶是否完全熔化。凝胶完全融化后加入与Buffer DE-A等体积的Buffer PCR-B，混合均匀。

* 混合物充分混匀以保证形成均一的黄色溶液。

当分离DNA片段小于400 bp时，需要再加入一个凝胶体积的异丙醇。

步骤 3-5可以选择负压法或离心法

A. 负压法

- 3A. 正确连接负压装置，将 DNA 制备管插到负压装置的插口上。吸取步骤2 中的混合液，转移到制备管中，开启并调节负压至-25-30 英寸汞柱，缓慢吸走管中溶液。
- 4A. 加700 μ l Buffer W2，吸尽管中溶液。以同样的方法再用 700 μ l Buffer W2 洗涤一次。



* 确认在 Buffer W2 concentrate 中已按试剂瓶上的指定体积加入无水乙醇。

两次使用 Buffer W2 冲洗能确保盐份被完全清除，消除对后续实验的影响。

5A. 将制备管置于2 ml 离心管 (试剂盒提供)中，12,000×g 离心1 min。

B. 离心法:

3B. 吸取步骤2 中的混合液，转移到 DNA 制备管(置于2ml离心管(试剂盒内提供))中，12,000×g 离心1 min。弃滤液。

4B. 将制备管置回2 ml 离心管，加 700 μ l Buffer W2，12,000×g 离心1 min，弃滤液。以同样的方法再用 700 μ l Buffer W2洗涤一次 12000×g 离心1min。

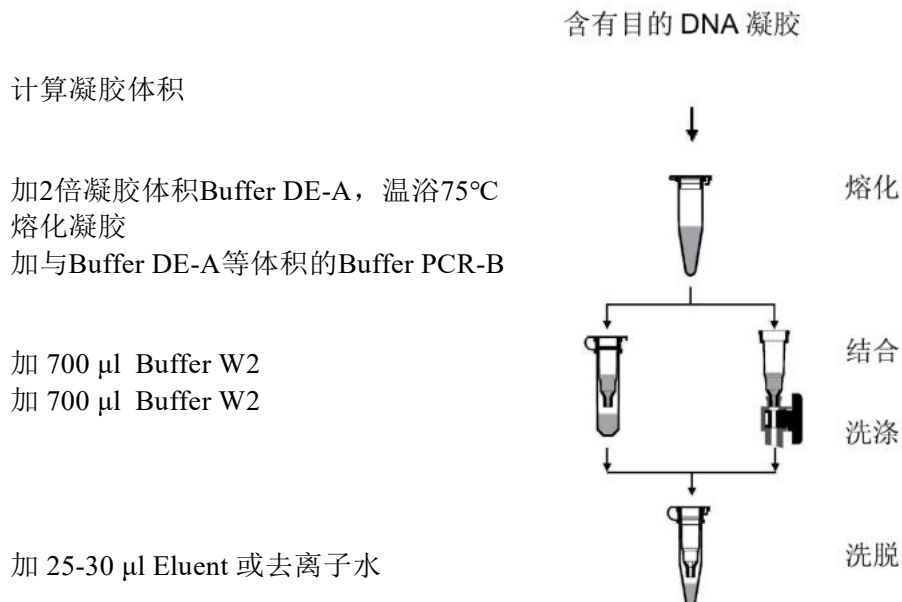
* 确认在 Buffer W2 concentrate 中已按试剂瓶上的指定体积加入无水乙醇。

两次使用 Buffer W2 冲洗能确保盐份被完全清除，消除对后续实验的影响。

5B.将制备管置回2 ml 离心管中，12,000×g 离心1 min。

6. 将制备管置于洁净的 1.5 ml离心管中，在制备膜中央加 25-30 μ l Eluent 或去离子水，室温静置1 min。12,000×g 离心1 min 洗脱 DNA。

* 将 Eluent 或去离子水加热至 65°C将提高洗脱效率。



清洁试剂盒操作步骤（用户可以选择负压法或离心法）

A. 负压法

1A. 正确连接负压装置，将制备管插到负压装置的插口上:在 PCR、酶切、酶标或测序反应液中，



分别加入2个体积的Buffer DE-A和2个体积的 Buffer PCR-B，混合均匀后转移到制备管中，开启并调节负压至-25-30 英寸汞柱，缓慢吸走管中溶液。

2A. 加700 μ l Buffer W2，吸尽管中溶液。以同样的方法再用 700 μ l Buffer W2 洗涤一次。

* 确认在 Buffer W2 concentrate 中已按试剂瓶上的指定体积加入无水乙醇。

两次使用 Buffer W2 冲洗能确保盐份被完全清除，消除对后续实验的影响。

3A. 将制备管置于2ml离心管 (试剂盒内提供)中，12,000 \times g 离心1min。

4A. 将制备管置于洁净的 1.5 ml 离心管，在制备管膜中央加 25-30 μ l Eluent 或去离子水，室温静置1min。12,000 \times g 离心1min 洗脱DNA。

* 将 Eluent 或去离子水加热至 65 $^{\circ}$ C将提高洗脱效率。

B. 离心法:

1B. 在PCR、酶切、酶标、或测序反应液中，分别加入2个体积的Buffer DE-A和2个体积的 Buffer PCR-B，混合均匀后转移到制备管中，转移到制备管中，将制备管置于 2 ml离心管(试剂盒内提供)中，12,000 \times g 离心1min，弃滤液。

2B. 将制备管置回2 ml 离心管，加700 μ l Buffer W2，12,000 \times g 离心1 min，弃滤液。

* 确认在 Buffer W2 concentrate 中已按试剂瓶上的指定体积加入无水乙醇。

3B. (可选步骤) 将制备管置于离心管中，将制备管置回 2 ml离心管，加 700 μ l Buffer W2，12,000 \times g 离心1 min。

* 从离心机中取出 2ml 离心管时。注意: 不要让管底的 Buffer W2 接触到制备管。

4B. 将制备管置于洁净的 1.5 ml 离心管中，在制备管膜中央加 25-30 μ l Euent 或去离子水，室温静置1 min。12,000 \times g 离心1 min 洗脱DNA。

* 将 Eluent 或去离子水加热至 65 $^{\circ}$ C将提高洗脱效率。

加样品和2倍体积Buffer DE-A,
加与Buffer DE-A等体积的Buffer PCR-B

加 700 μ l Buffer W2
加 700 μ l Buffer W2

加 25-30 μ l Eluent 或去离子水

