

## 产品概述

Universal DNA Purification Kit 通用 DNA 纯化试剂盒利用核酸纯化柱特异性的吸附 DNA，从 TAE 和 TBE 琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段，还能直接用于纯化 PCR 产物或酶切产物等其它方法获得的 DNA 粗制品中纯化 DNA 片段，除去其它有机化合物、蛋白质、无机盐离子、寡核苷酸引物等杂质。本试剂盒纯化得到的 DNA 可直接应用于酶切、连接、克隆、测序等多种操作。

## 产品组分

| Components                         | BR2E301-01<br>50 T | BR2E301-02<br>200 T |
|------------------------------------|--------------------|---------------------|
| Buffer GSB                         | 25 mL              | 100 mL              |
| Buffer PW                          | 15 mL              | 50 mL               |
| Elution Buffer                     | 15 mL              | 30 mL               |
| Spin Columns with Collection Tubes | 50 套               | 200 套               |

## 保存条件

试剂盒在室温（15~30℃）干燥条件下保存 18 个月。若溶液产生沉淀，使用前可在 37℃ 水浴中预热 10 min 以溶解沉淀，不影响效果。

## 自备材料

无水乙醇、3M 乙酸钠（pH5.2）和异丙醇（回收片段小于或等于 100 bp DNA 片段时添加 1 倍凝胶体积异丙醇）。

## 注意事项

1. 本产品仅作科研用途，不用于临床诊断。
2. Buffer PW 首次使用前需加入 4 倍体积的无水乙醇（例如：15 mL Buffer PW 中添加 60 mL 无水乙醇；50 mL Buffer PW 中添加 200 mL 无水乙醇），于室温保存。
3. 为了保证回收效果，建议使用新鲜电泳缓冲液进行电泳。
4. 紫外照射会损伤 DNA，影响下游实验（如克隆、连接），切胶回收时请勿长时间在紫外下照射。
5. Buffer GSB 中含有 pH 指示剂，为黄色，指示  $\text{pH} \leq 7.5$ 。
6. 洗脱体积越大，洗脱得率越高。若需得到较高浓度的 DNA，可以适当减少洗脱体积，但最小体积应不少于 25  $\mu\text{L}$ ，体积过小会降低 DNA 洗脱得率，降低产量。

## 实验操作

**注：Buffer PW 首次使用前需加入 4 倍体积的无水乙醇。**

### 一、从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段

1. DNA 电泳结束后，在紫外灯下切下含目的 DNA 片段的凝胶，尽量去除多余的凝胶。称取凝胶重量（去除空管重量），100 mg 凝胶等同于 100  $\mu\text{L}$  体积。
2. 加入等倍体积 Buffer GSB，55~60℃ 水浴，水浴期间温和上下翻转离心管 2~3 次，确保凝胶块完全融化。待凝胶完全融化后观察凝胶溶液颜色，若为黄色可进行后续操作；若为桔红色或紫色，可使用 10  $\mu\text{L}$  的 3 M 乙酸钠（pH5.2）将颜色调整为

黄色后再进行后续操作。(若回收小于或等于 100 bp DNA 片段时,水浴融胶后,再加入 1 倍凝胶体积的异丙醇于融化的凝胶溶液中,混匀后再按第 3 步进行操作)。

3. 待融化的凝胶溶液温度降至室温,转移至吸附柱中,室温静置 1 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液。(高温时吸附柱结合 DNA 能力较弱)。

4. 加入 600  $\mu$ L 的 Buffer PW (第一次使用前请检查是否加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液。重复此步骤。

5. 12,000 rpm 离心 2 min, 彻底去除残留的 Buffer PW。

6. 将吸附柱置于一干净的离心管中, 开盖室温静置 2 min。在吸附柱中央加入 30~50  $\mu$ L 的 Elution Buffer 或去离子水 (提前 60~70°C 预热, 洗脱效果会更好), 静置 1 min。12,000 rpm 离心 2 min 回收 DNA 产物, 保存于 -20°C。若需要提高产物浓度, 建议将得到的溶液重新加入吸附柱中, 重复此步进行二次洗脱。

## 二、从 PCR 反应液或酶切反应液中回收 DNA 产物

1. 用移液枪测量 PCR 反应液或酶切反应液的体积, 加入 3 倍体积的 Buffer GSB, 充分混匀。混匀后观察溶液颜色, 若为黄色可进行后续操作; 若为桔红色或紫色, 可使用 10  $\mu$ L 的 3 M 乙酸钠 (pH5.2) 将颜色调整为黄色后再进行后续操作。(若回收小于或等于 100 bp DNA 片段, 加入 1 倍 PCR 反应液或酶切反应液体积的异丙醇, 混匀后再按第 2 步进行操作)。

2. 将混匀后的溶液转移至吸附柱中, 室温静置 2 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液。

3. 加入 600  $\mu$ L 的 Buffer PW (第一次使用前请检查是否加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液。重复此步骤。

4. 12,000 rpm 离心 2 min, 彻底去除残留的 Buffer PW。

5. 将吸附柱置于一干净的离心管中, 开盖静置 2 min。

6. 在吸附柱中央加入 30~50  $\mu$ L 的 Elution Buffer 或去离子水 (提前 60~70°C 预热, 洗脱效果会更好), 静置 1 min。12,000 rpm 离心 2 min 回收 DNA 产物, 保存于 -20°C。若需要提高产物浓度, 建议将得到的溶液重新加入吸附柱中, 重复此步进行二次洗脱。

## 常见问题与解决方案

1. DNA 回收效率低: 紫外下切胶过慢, 核酸长时间暴露在紫外线下, 结构等可能发生变化, 从而失去功能。电泳时所用的电泳缓冲液长时间未更换, pH 发生变化, 影响 DNA 吸附。

2. 琼脂糖凝胶未完全融化可能使回收率降低: 尽量去除不含目的片段的琼脂糖凝胶, 融胶过程可间隔性的颠倒混匀促进凝胶融解, 仔细观察确保凝胶完全融解可提高回收效率。

3. 洗脱效率低: 将 Elution Buffer 预热至 60~70°C, 并重复二次洗脱。

4. 盐污染: 请使用 Buffer PW 洗脱两次, Buffer PW 可沿着吸附柱的管壁四周加入, 加入后盖盖颠倒混匀 2~3 次有助于完全冲洗管壁上残留的盐分。