

## 产品说明书

**产品名称: Universal DNAGel / 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。100 bp 至 20 kb 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 GBL	30 mL	60 mL
Buffer KB	30 mL	60 mL
Buffer GC-A	25 mL	50 mL
Buffer GC-B	25 mL	50 mL
DNA Wash Buffer*	30 mL	2x30 mL
Buffer C1	1mL	1.5mL
Elution Buffer	10 mL	15 mL
User Manual	1	1

### 要点

- DNA Wash Buffer: 使用前70 mL (50T) 或 70 mL (100T) 96-100%乙醇加入至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。
- 100 mg 的凝胶相当于 100  $\mu$ 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。
- Buffer GC-A/B 含有核酸结合 pH 指示剂, pH<7.5 时, Buffer GC-A/B 显示黄色, 利于 DNA 的结合; pH>7.5 时, Buffer GC-A/B 显示紫色, 在此环境下, 不利于 DNA 结合, 每个反应需额外加入 10ul Buffer C1, 此时由紫色变为黄色, 可继续进行后续实验。
- 65°C 预热 Elution Buffer 或 ddH<sub>2</sub>O。
- 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

本试剂盒自生产之日起可保存 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 以下或 4000bp 片段的回收)

本产品仅用于科研

### 操作步骤（离心法）

- 柱平衡步骤：向 **Mini Column**（自带 **2 mL Collection Tube**）加入 **500  $\mu$ L Buffer GBL**，12000 rpm 离心 1 min，弃滤液，将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube**（请使用当天处理过的柱子）。
- 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  $^{\circ}$ C 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。  
**注**：100mg 凝胶相当于 100 $\mu$ l；纯化片段大于 4000bp 或小于 200bp 需加入 1 体积的异丙醇；对于大于 2% 的凝胶，加入 2 体积的 GC-A Buffer；每个 Mini Column 最大承载 400mg 凝胶，对于大于 400mg 凝胶的样本需增加一个 Mini Column 柱子；
- PCR 产物纯化**：加入 **2 倍体积** 的 **Buffer GC-B**（如 100  $\mu$ L 的 PCR 反应液，加入 200  $\mu$ 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 到 1 倍体积的 PCR 反应液。100 mg 的凝胶相当于 100  $\mu$ L。200 bp 以下或 4000bp 以上片段的纯化，请加入 1 倍体积的异丙醇。
- 转移上述混合液（每次不超过 **700  $\mu$ L**）至一个 **Mini Column**，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。
- 可选：**琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 **500  $\mu$ L Buffer KB**，12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube**。
- 加入 **700  $\mu$ L DNA Wash Buffer**，12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将 **Mini Column** 放回 **2 mL Collection Tube**。
- 重复步骤 5。
- 注**：确保使用前按要求加入乙醇至 DNA Wash Buffer 瓶内。
- 可选：**琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 **700  $\mu$ L DNA Wash Buffer**，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。
- 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。
- 转移 **Mini Column** 至一个 **1.5 mL Microfuge Tube**，在膜中央加入 **30~100  $\mu$ L Elution Buffer**（65 $^{\circ}$ C 预热）或 ddH<sub>2</sub>O (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 ddH<sub>2</sub>O 置于 65 $^{\circ}$ C 预热，或加入洗脱液后将 **Mini Column** 置于 65 $^{\circ}$ C 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 $^{\circ}$ C 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）

- 根据制造商指南安装负压设备，将 **Mini Column** 连接到负压装置上。
- 柱平衡步骤：向 **Mini Column** 加入 500  $\mu$ L Buffer GBL，打开负压装置 1 min。
- 按照离心法中步骤 2 操作。瞬时离心以收集所有液体至管底。
- 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。
- 可选：**琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 **500  $\mu$ L Buffer KB**，打开负压装置 1 min。
- 加入 **700  $\mu$ L DNA Wash Buffer**，打开负压装置 1 min。
- 重复步骤 6。
- 可选：**琼脂糖凝胶产物纯化**：加入 **700  $\mu$ L DNA Wash Buffer**，打开负压装置 1 min。  
**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。
- 打开负压装置，干燥空柱子 5 min。
- 将 **Mini Column** 转移至一个 **1.5 mL Microfuge Tube**，在膜中央加入 **30~100  $\mu$ L Elution Buffer** 或 ddH<sub>2</sub>O，静置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min 洗脱 DNA。  
**注**：将 Elution Buffer 或 ddH<sub>2</sub>O 置于 65 $^{\circ}$ C 预热，或加入洗脱液后将 **Mini Column** 置于 65 $^{\circ}$ C 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°C, 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°C 预热 15min 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°C 融化。