版本号：08152012

Universal DNA Purification Kit
通用型 DNA 纯化回收试剂盒

目录号： YJ0519
保 存： 室温

组分说明

Cat. No.	YJ0519
Kit Size	50
Buffer PC	50 ml
Buffer PS	15 ml
Buffer PW（concentrate）	10 ml
Buffer EB	10 ml
Spin Column DM	50
Collection Tube（2 ml）	50

产品简介

本试剂盒采用新型硅基质膜及特殊的缓冲液系统，高效专一的结合 DNA，既能从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段，又能直接纯化 PCR 产物与酶反应物中的单链、双链 DNA，可最大限度地去除引物、酶、矿物油、琼脂糖等杂质，获得高纯度的 DNA，满足多种实验要求。本试剂盒可回收 50 bp-50 kb 的 DNA 片段，每个吸附柱最高可吸附 20 μg 的 DNA，且 DNA 回收效率高达 90%。由本试剂盒回收纯化的 DNA 可直接用于酶切、连接、PCR 扩增、DNA 测序等各种分子生物学实验。

注意事项

1. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在Buffer PW中加入无水乙醇。
2. 使用前请检查Buffer PC是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀现象，可在37℃水浴几分钟，即可恢复澄清。
3. 电泳时最好使用新的电泳缓冲液，以免影响电泳和回收效果。
4. 切胶时，紫外照射时间应尽量短，以免对DNA造成损伤。
5. 回收率与初始 DNA 量和洗脱体积有关。
6. 所有离心步骤均在室温下进行。

自备试剂：无水乙醇，离心管

操作步骤

1. 样品处理

A 从琼脂糖凝胶中回收DNA片段

a1. 将单一目的DNA条带从琼脂糖凝胶中切下（尽量切除多余凝胶部分），放入干净的离心管（自备）中，称取凝胶重量。

注意：若胶块的体积过大，可将胶块切成碎块。

a2. 向胶块中加入3倍凝胶体积的Buffer PC；当琼脂糖凝胶浓度>2%时，建议使用6倍凝胶体积的 Buffer PC（如凝胶重为100 mg，其体积可视为100 µl，依此类推）。

a3. 50℃孵育10分钟，其间不断温和地上下颠倒离心管，以确保胶块充分溶解。如果还有未溶的胶块，可再补加一些溶胶液或继续放置几分钟，直至胶块完全溶解。

注意：1）在胶充分溶解后检测pH值，若pH值大于7.5，可向含有DNA的胶溶液中加10-30 µl 的3 M醋酸钠（pH 5.0）将pH值调到5-7

2）吸附柱的容积是 700 µl，若样品体积大于 700 µl 可分批加入。

3）胶块完全溶解后最好将胶溶液温度降至室温再上柱，因为吸附柱在较高温度时结合 DNA 的能力较弱。

a4.（可选步骤）当回收片段<500 bp或>4 kb时，应加入1倍胶体积的异丙醇，上下颠倒混匀（如凝胶为100 mg，则加入100 µl异丙醇）。

注意：当回收片段为500 bp-4 kb时，加入异丙醇不会影响回收率。

B 从PCR反应液或酶反应液中回收DNA

b1. 计算PCR反应液或酶切反应液的体积，向其中加入5倍PCR反应液或酶反应液体积的 Buffer PC，充分混匀（无需去除石蜡油或矿物油）。

例如：100 µl的PCR样本中加入500 µl Buffer PC（不包括石蜡油或矿物油）。

2. 柱平衡：将吸附柱（Spin Column DM）放入收集管（Collection Tube）中，向吸附柱中加入200 µl Buffer PS，12,000 rpm（~13,400×g）离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

3. 将从a3或b1中所得溶液加入到平衡好的吸附柱（已装入收集管）中，室温放置2分钟，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

注意：吸附柱容积为700 µl，若样品体积大于700 µl 可分批加入。

4. 向吸附柱中加入650 µl Buffer PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液。

注意：如果纯化的DNA用于盐敏感的实验（例如平末端连接或直接测序），建议加入Buffer PW静置2-5分钟再离心。

5. 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm离心2分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR等）。为确保下游实验不受残留乙醇的影响，建议将吸附柱开盖，置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的乙醇。

6. 将吸附柱放到一个新离心管（自备）中，向吸附膜中间位置加入30-50 µl Buffer EB（pH 8.5）或水（pH 7.0-8.5），室温放置2分钟。12,000 rpm离心2分钟，收集DNA溶液，-20℃保存DNA。

注意：1）洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液，应保证其pH值在7.0-8.5（可以用NaOH将水的pH值调到此范围）。

2）为了提高DNA的回收量，可将离心得到的溶液重新滴加到吸附柱中，重复步骤6。

3）洗脱体积不应小于30 µl，体积过少会影响回收效率。

4）如果使用TE洗脱，需要考虑其中含有的EDTA是否会影响后续的酶促反应。

5）回收大于10 kb的DNA片段时，Buffer EB应在50℃水浴中预热，适当延长吸附和洗脱时间，可增加回收效率。