

# 通用DNA纯化回收试剂盒

使用说明书 (版本号: Ver.1.1.0)

## 产品特点

- ◇ 从琼脂糖凝胶或PCR反应液当中快速 (15分钟) 高产量地回收片段。
- ◇ 独特的微量柱设计使得DNA可以在高浓度下洗脱到最小体积 ( $\geq 10\mu\text{l}$ )。
- ◇ 洗脱的DNA非常适合用于DNA连接、测序、标记、PCR等应用。

产品货号:

TD409-10 (10次反应)    TD409-50 (50次反应)    TD409-200 (200次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

# 目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	1
产品描述	1
溶液制备	2
操作步骤	3
◇ 琼脂糖凝胶回收DNA	3
◇ 从PCR产物反应液或酶切反应液当中回收DNA	4
FAQ常见问题及解决方法	4
订购信息	5
组件查询	6

## 产品组份

试剂盒组成	10次	50次	200次	保存
溶胶液	10ml	50ml	2*100ml	室温
DNA洗涤液	2ml	6ml	24ml	室温
基因组DNA洗脱液	1ml	1ml	4ml	室温
1号C纯化柱	10支	50支	4*50支	室温
2ml收集管	10支	50支	200支	室温

## 注意事项

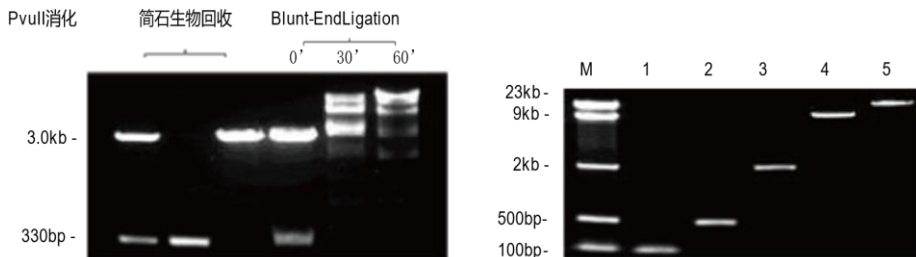
1. 此产品仅供研究使用，应由专业人员操作。
2. 试剂盒中包含的一些试剂是刺激物，请带好手套和防护眼镜。
3. 售出后一年内产品可质保，试剂盒已经过大量的常规检测来保证其可操作性。

## 产品特性

- ◇ DNA纯度：在水中洗脱的高质量、纯化的DNA或直接纯化PCR产物，尤其适用于DNA测序、DNA连接、限制性内切酶消化、DNA放射性标记等分子生物学实验。
- ◇ DNA大小：100bp-23kb之间。
- ◇ DNA回收率：一般的可在10 $\mu$ l的水中洗脱出5 $\mu$ g的DNA。对于从100bp到10kb的DNA，回收率为70-90%，从11kb到23kb的DNA，回收率为50-70%。
- ◇ 样品来源：来自PCR、限制性内切酶消化、质粒抽提、激酶反应等的DNA和在TAE或TBE缓冲的琼脂糖凝胶切片中的DNA。

## 产品描述

- ◇ 琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒为从琼脂糖凝胶中回收纯化DNA提供了一种方案。只需将特殊配方的ADB溶胶液添加到含有DNA样本的凝胶片上，让其溶解，然后转移到所提供1号C纯化柱上。不需要有机变性剂或氯仿。该产品利用快速核酸结合技术，在短短15分钟内产生高质量的DNA（见下图）。使用琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒纯化的DNA非常适合用于DNA连接反应、测序、DNA标记反应、PCR等。



使用琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒纯化的DNA片段进行末端平直连接。经PvuII限制性内切酶消化的质粒DNA片段被纯化，然后按照指示的时间混合并连接。

琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒的有效性。  
M:DNA Marker;

- ◇ 纯化回收系列所有产品提供单柱（无帽或有帽柱）或96孔格式。此外，简石生物的大片段DNA回收试剂盒被设计用于大DNA（高达200 kb）的凝胶回收。

可选用核酸纯化柱规格:

核酸纯化柱名称	1号	1号C	1号96孔板	1号C-XL
	不带盖	带盖	96孔高通量孔板	长片段DNA结合
耗材货号	TC1003	TC1004	TC2004	TC1002
单孔液体容积	过滤体系 ≤800μl	过滤体系 ≤800μl	过滤体系 ≤1100μl	过滤体系 ≤750μl
核酸载量	5μg/柱	5μg/柱	5μg/孔	10μg/柱
最小洗脱体系	≥10μl	≥10μl	≥10μl	≥10μl
试剂盒货号	TD4001 TD4002	TD407	TD4021 TD4022	TD4045 TD4046

## 溶液制备

DNA洗涤液在使用之前一定要配好，添加好乙醇后在试剂瓶上做好标记！

- ◇ 10次反应的DNA洗涤液应按照标签上的提示添加100%的乙醇。
- ◇ 50次反应的DNA洗涤液应添加24ml 100%的乙醇(26ml 95%的乙醇)到6ml的DNA洗涤液中。
- ◇ 200次反应的DNA洗涤液应添加96ml 100%的乙醇(104ml 95%的乙醇)到24ml的DNA洗涤液中。

## 操作步骤:

以下离心操作步骤的离心力均在10000 - 16000xg之间进行。

琼脂糖凝胶回收DNA:

1. 使用刀片或手术刀把DNA片段从琼脂糖凝胶上切除下来并且移置到1.5ml小型离心管内。  
注意: 从凝胶上切下的琼脂糖尽可能的要少。
2. 将3倍体积的ADB溶液添加到每1体积从凝胶上切下的琼脂糖切块中。  
例如: 对于100 $\mu$ l (mg) 的琼脂糖凝胶切块, 添加300 $\mu$ l的ADB缓冲液。
3. 在55 $^{\circ}$ C下温水浴10分钟直到凝胶切块完全溶解。  
注意: 确定凝胶切块完全溶解是很重要的步骤。在温水浴过程中可辅以温和的搅拌有助于凝胶的溶解。
4. 将溶解的琼脂糖切块溶液放到1号C纯化柱中, 并把纯化柱套在收集管里。
5. 离心1分钟后, 倒掉过滤液。  
注意: 纯化柱所能容纳的样品体积为800 $\mu$ l。所以, 如果样品体积超过800 $\mu$ l时, 纯化柱就要被多次填充和离心。
6. 添加200 $\mu$ l的DNA洗涤液到纯化柱中离心1分钟, 去除滤出液。
7. 重复第6步洗涤步骤。
8. 可选步骤: 将收集管中的废液倒掉, 并将1号C纯化柱套回收集管中额外离心2分钟, 尽量除去洗涤液, 以免洗涤液中残留乙醇抑制下游反应。
9. 直接添加10~15 $\mu$ l DNA洗脱液到纯化柱基质中, 将纯化柱套在1.5ml离心管中离心1分钟来洗脱DNA。  
注意: 纯化柱中洗脱出的DNA产量与pH和温度有关, 如果使用水来洗脱, 确保pH是>6.0。在向纯化柱中加入水后静置1分钟可增加较大 (>6kb) DNA的产量, 在60-70 $^{\circ}$ C的水中洗脱DNA可增加较大DNA (>10kb) 的产量。  
注意: 如果试验需要的话TE缓冲液 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH8.0) 或改进的TE (10mM Tris-HCl, 0.1mM EDTA, pH8.5) 也可用来洗脱。

从PCR产物反应液或酶切反应液当中回收DNA:

1. 预估反应液体积, 加入两倍体积的溶液ADB。(例如: 100 $\mu$ l反应液 : 200 $\mu$ l ADB), 对于 $\leq$ 150bp的片段请加入3倍体积的ADB,以增加回收效率。
2. 将上一步得到的反应液, 全部加入1号C纯化柱当中, 离心1分钟后, 倒掉过滤液。  
注意: 纯化柱所能容纳的样品体积为800 $\mu$ l。所以, 如果样品体积超过800 $\mu$ l时, 纯化柱就要被多次填充和离心。
3. 添加200 $\mu$ l的DNA洗涤液到纯化柱中离心1分钟, 去除滤出液。
4. 重复第6步洗涤步骤。
5. 可选步骤: 将收集管中的废液倒掉, 并将1号C纯化柱套回收集管中额外离心2分钟, 尽量除去洗涤液, 以免洗涤液中残留乙醇抑制下游反应。


6. 直接添加10~15 $\mu$ l DNA洗脱液到纯化柱基质中，将纯化柱套在1.5ml离心管中离心1分钟来洗脱DNA。

注意：纯化柱中洗脱出的DNA产量与pH和温度有关，如果使用水来洗脱，确保pH是>6.0，在向纯化柱中加入水后静置1分钟可增加较大 (>6kb) DNA的产量。在60-70 $^{\circ}$ C的水中洗脱DNA可增加较大DNA (>10kb) 的产量。

注意：如果试验需要，TE缓冲液 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH8.0) 或改进的TE (10mM Tris-HCl, 0.1mM EDTA, pH8.5) 也可用来洗脱。

## FAQ常见问题及解决方法

Q: 问题	A: 可能的原因和建议的解决方案
低回收	<ul style="list-style-type: none"><li>◇ 确保琼脂糖完全溶解： 样品中可能有微小未溶解的琼脂糖球，会堵塞结合柱和将一些低盐，杂质带入最终的洗脱好的DNA中，并且降低柱的结合率。</li><li>◇ 凝胶溶解在60<math>^{\circ}</math>C以上的温度下： 如果在较高的温度下溶解，DNA可能会变性，影响DNA回收率。为最佳结果，凝胶切片在37-55<math>^{\circ}</math>C之间溶解。</li><li>◇ 制备不当/储存不当的DNA洗涤液： 确保在DNA洗涤缓冲液中加入了乙醇。盖住瓶子紧密防止随时间蒸发。</li><li>◇ 加入DNA洗脱缓冲液： 将洗脱缓冲液直接添加到纯化柱基质中，而不是添加到纯化柱的壁上。洗脱缓冲液对于<math>\geq</math>10kb的DNA，需要与基质接触至少1分钟。</li><li>◇ 不完全的洗脱： DNA的洗脱依赖于pH值、温度和时间。对于大基因组DNA(<math>\geq</math>50kb)，将加热的洗脱缓冲液 (60-70<math>^{\circ}</math>C) 应用于纯化柱上，并在洗脱前孵育2分钟。可进行连续洗脱以提升最终核酸量。这适用于DNA片段长度<math>\geq</math>10kb。</li></ul>

<p>低A260/A230比率</p>	<p>◇ 纯化柱尖被污染： 当从收集管中移除纯化柱时，要小心纯化柱的尖端不接触到废液。微量的盐会污染样品，导致低A260/A230。洗脱液中乙醇的残留污染也会干扰DNA的纯度。简石生物的核酸纯化柱设计可实现完全洗脱，无缓冲液残留（见下图）</p> <div style="text-align: center;">  </div>
<p>用胶回收试剂盒纯化后的DNA，琼脂糖凝胶中出现多个条带。</p>	<p>◇ DNA Loading Dye的酸化作用： 大多数Loading Dye不含EDTA，由于微生物生长会使其酸化（pH≤4）。这种低pH值足以导致DNA降解。因此，如果是用水洗脱DNA，推荐使用含有1mM EDTA的6X Loading Dye。</p>

## 订购信息

产品名称	货号	规格
琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒（无盖柱）	TD4001	50次
	TD407-10	10次
	TD407-50	50次
琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒（带盖柱）	TD407-200	200次
	TD4045	25次
琼脂糖凝胶大片段DNA回收试剂盒（带盖柱）	TD4046	100次
	TD4021	2*96次
96孔板-琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒（96孔板）	TD4022	4*96次

## 组件查询

组件名称	货号	规格	储存
溶胶液	TD4001-10	10ml	室温
	TD4001-50	50ml	室温
	TD4001-100	100ml	室温
DNA洗涤液	TD4003-2-2	2ml	室温
	TD4003-2-6	6ml	室温
	TD4003-2-24	24ml	室温
基因组DNA洗脱液	TD3004-4-1	1ml	室温
	TD3004-4-4	4ml	室温
	TD3004-4-10	10ml	室温
1号C纯化柱	TC1004-10	10支	室温
	TC1004-50	50支	室温
2号收集管	TC1001-10	10支	室温
	TC1001-50	50支	室温
	TC1001-200	200支	室温

(备注：核酸纯化柱设计细节请参见第2页)