大圣微量 DNA 凝胶/PCR 产物回收试剂盒（通用型）

货号：SB-HDP210 100 次/200 次

试剂盒组成、储存、稳定性：（本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。）

试剂盒组成	保存	100 次	200 次
平衡液	室温	5 ml	20 ml
溶胶/ 结合液 GMB	室温	100 ml	200 ml
漂洗液 WB	室温	25 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇	50 ml
漂洗液 PE	室温	50 ml	100 ml
微量吸附柱 DC	室温	100 个	200 个
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml	15 ml
收集管（2 ml）	室温	100 个	200 个

储存事项:

1. 所有的溶液应该是澄清的，如果环境温度低时溶液可能形成沉淀，此时不应该直接使用，可在 37℃水浴加热几分钟，即可恢复澄清。使用前应该恢复到室温。
2. 储存于低温（4℃或者 - 20℃）会造成溶液沉淀，影响使用效果，因此运输和储存均在室温下（15℃-25℃）进行。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

产品介绍:

本品为微量 DNA 浓缩回收的专用试剂盒。适用于微量 DNA 的琼脂糖凝胶 DNA 回收、PCR 反应产物纯化回收、酶切产物 DNA 片断纯化回收、探针标记后纯化回收、 DNA 样品浓缩等。在高离序盐存在的情况下，DNA 片断选择性的吸附于离心柱内的硅基质膜上，再通过一系列快速的漂洗 - 离心的步骤，漂洗液将引物、核苷酸、蛋白、酶等杂质去除，最后低盐、高 pH 值的洗脱缓冲液将纯净 DNA 从硅基质膜上洗脱。

产品特点:

1. 特殊无垫圈离心柱设计确保离心后无液体残留和污染。保证了回收 DNA 高纯度。
2. 特殊微量离心柱设计可以最低 10 μl 洗脱，保证了回收 DNA 的高浓度。
3. 使用了优质溶胶液，不含传统溶胶液的碘化钠和高氯酸盐，不抑制回收后酶切、连接克隆等下游反应。
4. 独特的溶胶液/结合液配方，将溶胶和结合两种功能统一，因此一个试剂盒可以运用于琼脂糖 DNA 回收、PCR 产物清洁纯化、酶切产物纯化回收等多种情况，节省了需购买多种试剂盒的费用。
5. 溶胶液/结合液调制成为了黄颜色，便于观察溶胶效果和监测 pH 值变化从而达到最佳结合效果，大大提高回收效率。
6. 改进的溶胶液配方,大大提高了缓冲能力和稳定性，即使样品变化很大也能将 PH 缓冲在最佳结合范围内

注意事项:

1. 回收纯化的 DNA 片段一般在 100 bp 到 40 kb 之间，但是在此范围内，回收效率随着片段长度过长、过短，回收效率迅速降低。
2. 回收 DNA 的量和起始 DNA 的量、洗脱体积、DNA 片断大小有关。100 bp-5 kb 的 DNA 片段，PCR 产物清洁的回收率可高达 85% - 95%。预计片段过长，过短，回收率低的情况下，可以选择小体积洗脱（最小不低于 5 μl），提高浓度。
3. 切胶回收时，紫外灯观察对 DNA 片段有损坏作用，应该尽可能使用能量低的长波紫外线，并且尽可能的缩短紫外线下处理的时间。

4. 洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA，不影响下游酶切、连接等反应。 也可以使用水洗脱， 但应该确保 pH 大于 7.5， pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱，DNA 片段应该保存在 - 20℃。DNA 片段如果需要长期保存，可以用 TE 缓冲液洗脱（10mMTris-HCl，1mM EDTA，pH 8.0），但是 EDTA 可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。

关于平衡液的使用

1. 介绍：核酸吸附硅胶膜柱子长期放置过程中会同空气中的电荷/尘埃发生反应而影响其核酸的结合能力。硅胶柱经平衡液预处理后可大大减少柱子中硅胶膜的憎水基团，提高核酸的结合能力。从而提高硅胶柱子回收效率或者产量。平衡液是强碱性溶液，若不小心碰到，请用大量自来水清洗。用完后需盖紧瓶盖，以免接触空气。室温保存。在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至37℃使沉淀完全消失。

2. 使用方法：取一个新的硅胶膜吸附柱子装在收集管中，吸取 50 μl 的平衡缓冲液至柱子中。13000 rpm离心 1 分钟，倒掉收集管中废液，将吸附柱子重新放回收集管。此时平衡液预处理柱子完毕。接后续的操作步骤。

操作步骤：

提示：第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入4倍体积量的无水乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入!

1. 琼脂糖凝胶 DNA 回收：在长波紫外灯下，用干净刀片将所需回收的 DNA 条带切下，尽量切除不含 DNA 的凝胶，得到凝胶体积越小越好。

2. 将切下的含有 DNA 条带凝胶放入 1.5 ml 离心管，称重。先称一个空 1.5 ml 离心管重量，然后放入凝胶块后再称一次，两次重量相减，得到凝胶的重量。

3. 加 3 倍体积溶胶/结合液 GMB。

如果凝胶重为 100 mg ，其体积可视为 100 μl ，则加入 300 μl 溶胶液。

如果凝胶浓度大于 2 %，应加入 6 倍体积溶胶液。

4. 56℃水浴放置 10 分钟（或直至胶完全溶解）。每 2-3 分钟涡旋震荡一次帮助加速溶解。

5. 可选，一般不需要：每 100 mg 最初的凝胶重量加入 150 μl 的异丙醇，震荡混匀。有时候加入异丙醇可以提高回收率，加入后不要离心。回收大于 4 Kb 的片段时，不加入异丙醇，加入有时反而可能降低回收效率。

平衡液预处理吸附柱：**使用平衡液预处理硅胶膜吸附柱为必做步骤，具体方法参见前文“关于平衡液的使用”。**

6. 将上一步所得溶液加入微量离心柱中（吸附柱放入收集管中），室温放置 1 分钟，12,000 rpm离心 30 秒，倒掉收集管中的废液。如果总体积超过 750 μl ，可分两次将溶液加入同一个微量离心柱 中。过滤下的溶胶/ 结合液和收集管内残存的强碱性平衡液混合后，溶胶液可能会从黄色变成橘红甚至紫色，此为酚红 PH 指示剂碱性条件下的正常颜色变化。

可选步骤：加入 500μl 去蛋白液 PE，12,000rpm 离心 30-60 秒，弃废液。

7. 加入 500 μl 漂洗液 WB（请先检查是否已加入无水乙醇!），12,000 rpm离心 30 秒，弃掉废液。

8. 加入 500 μl 漂洗液 WB，12,000 rpm离心 2 分钟，小心取出甩干后的微量离心柱，放入一个干净的离心管。

此步骤将漂洗和空甩干燥离心柱合二为一。 将微量离心柱取出时应小心不要让离心柱下缘碰到收集管中的漂洗液废液。以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

9. 小心将移液器吸头对准微量离心柱吸附膜的中间部位 （不要加到管壁上）加（10 μl-30 μl）洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 65-70℃水浴中加热效果更好），室温放置 1 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟。要洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要 DNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积， 但是最小体积不应少于 10 μl，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少产量。

PCR 产物或者酶切片段等 DNA 纯化：

1. 每 20 μl PCR 扩增后体系或者酶切后体系加入 100 μl 溶胶/结合液 GMB，充分混匀。

注意：处理样品体积：溶胶结合液体积 =1:5

平衡液预处理吸附柱：使用平衡液预处理硅胶膜吸附柱为必做步骤，具体方法参” 见前文“关于平衡液的使用”。

2. 将上一步所得溶液加入微量离心柱中（吸附柱放入收集管中），室温放置 1 分钟，12,000 rpm离心 30 秒，倒掉收集管中的废液。

3. 从此步骤开始和琼脂糖凝胶 DNA 回收的操作步骤 7-9 完全一致，请参见大圣琼脂糖凝胶 DNA 回收的操作步骤 7-9。