



## 核酸纯化试剂使用说明书

### 【产品名称】

产品通用名称：核酸纯化试剂

产品商用名称：**快捷型琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒II**

### 【包装规格】

DP1721 ( 50 次 ) / DP1722 ( 100 次 ) / DP1723 ( 200 次 )

### 【预期用途】

用于 PCR 产物，质粒 DNA，酶切片段等的切胶回收和单一条带 PCR 产物的直接回收。其处理后的产物用于酶切，PCR，测序，文库筛选，链接和转化等实验。

### 【检验原理】

在高离序盐存在的条件下，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，通过去蛋白液和漂洗液将引物，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。

### 【主要组成成分】

试剂盒由溶胶/结合液 DB，漂洗液 WB，洗脱缓冲液 EB，3M 醋酸钠 ( pH5.2 )，微量吸附柱，收集管 ( 2mL )，使用说明书和合格证组成。主要组分及储存条件见表 1。

表 1 试剂盒组成、储存

试剂盒组成	DP1721	DP1722	DP1723	保存
溶胶/结合液 DB	20 mL	40 mL	80 mL	室温
漂洗液 WB	15 mL	25mL	50 mL	室温
	<b>第一次使用前按说明加指定量乙醇</b>			
洗脱缓冲液 EB	10 mL	20 mL	20 mL	室温
3M 醋酸钠 ( pH5.2 )	0.5 mL	0.5 mL	0.5 mL	室温
微量吸附柱	50 个	100 个	200 个	室温
收集管 ( 2mL )	50 个	100 个	200 个	室温

注：第一次使用前请先在漂洗液 WB 瓶中加入指定量乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！

### **实验所需试剂但未提供的物品：**

\* 无水乙醇

注：每瓶试剂的净含量应不少于标示值。

### **【储存条件及有效期】**

- 1、本试剂盒有效期一年，请在有效期内使用。
- 2、所有试剂均可常温保存。
- 3、为了避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

### **【适用仪器】**

本产品可适用于匹配1.5/2.0 mL 离心管的高速离心机，如百泰克CK1260 或者类似离心机。

### **【样本要求】**

回收片段范围为 100 bp-10 kb，回收率可达 80%以上，片段过大或过小都会导致回收率迅速降低。

### **【使用方法】**

**\*第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加指定量无水乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！**

#### **（一） 以下为琼脂糖凝胶 DNA 回收操作步骤。**

1. 在长波紫外灯下或可见光透射仪上,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. 将切下含有 DNA 条带凝胶放入 1.5mL 离心管,称重。  
**先称一个空 1.5mL 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. 加两倍体积溶胶/结合液 DB。  
**如果凝胶重为 0.1g,其体积可视为 100 $\mu$ L,则加入 200 $\mu$ L 溶胶/结合液。**  
**如果凝胶浓度大于 2%,应加入 2-4 倍体积溶胶/结合液。**  
**凝胶块最大不能超过 400mg,如果超过 400mg,请用多个离心柱,进行回收。**
4. 56 $^{\circ}$ C水浴放置 3-5 分钟（或直至胶完全溶解，如果没有溶解完全，会影响回收率）。每

1-2 分钟涡旋震荡一次帮助加速溶解。

5 . 将上一步所得溶液加入微量吸附柱中( 吸附柱放入收集管中) , 12,000 rpm 离心 30-60 秒,倒掉收集管中的废液。( 微量吸附柱单次上样量最多 700  $\mu$ L,若样本量大于 700  $\mu$ L 需分多次过柱)

6 . 加入 700 $\mu$ L 漂洗液 WB ( **请先检查是否已加入无水乙醇!** ) ,12,000 rpm 离心 1 分钟,弃掉废液。

7 . 加入 500 $\mu$ L 漂洗液 WB ( **请先检查是否已加入无水乙醇!** ) ,12,000 rpm 离心 1 分钟,弃掉废液。

8 . 将微量吸附柱放回空收集管中,12,000 rpm 离心 2 分钟,尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

9. 取出微量吸附柱,放入一个干净的离心管中,在**吸附膜的中间部位**加 15-30 $\mu$ L 洗脱缓冲液 EB ( 或去离子水 ) ,室温放置 2 分钟,12,000 rpm 离心 1-2 分钟。

**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 15 $\mu$ L,体积过小会降低 DNA 洗脱效率,减少产量。**

## (二) 以下为 PCR 产物或者酶切片段等 DNA 纯化操作步骤。

1 . 每 100 $\mu$ LPCR 扩增后体系加入 300 $\mu$ L 溶胶/结合液 DB,充分混匀。( 如果初始体系小于 100 $\mu$ L,请事先用双蒸水调整至 100 $\mu$ L )。

2 . 将上一步所得溶液加入微量吸附柱中 ( 吸附柱放入收集管中 ) ,室温放置一分钟,12,000 rpm 离心 30-60 秒,倒掉收集管中的废液。

3 . 加入 700 $\mu$ L 漂洗液 WB ( **请先检查是否已加入无水乙醇!** ) ,12,000 rpm 离心 1 分钟,弃掉废液。

4 . 加入 500 $\mu$ L 漂洗液 WB ( **请先检查是否已加入无水乙醇!** ) ,12,000 rpm 离心 1 分钟,弃掉废液。

5 . 将微量吸附柱放回空收集管中,12,000 rpm 离心 2 分钟,尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

6. 取出微量吸附柱,放入一个干净的离心管中,**在吸附膜的中间部位**加 15-30 $\mu$ L 洗脱缓冲液 EB ( 或去离子水 ) ,室温放置 2 分钟,12,000 rpm 离心 1 分钟。如果需要较多量 DNA, 可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中,离心 1 分钟。

**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 15 $\mu$ L,体积过小会降低 DNA 洗脱效率,减少产量。**

## 【产品性能指标】

1. pH 值:

在 25°C±2°C条件下测定，以下组分的 pH 值需满足下表要求:

组分名称	pH 值
溶胶/结合液 DB	5.2± 0.2
漂洗液 WB	7.5± 0.2
洗脱缓冲液 EB	8.5± 0.2
3M 醋酸钠	5.2± 0.2

2. 核酸回收效果：

回收片段范围为 100 bp-10 kb，回收率可达 80%以上。

**【注意事项】**

1. 所有的离心步骤均在室温完成,使用转速可以达到12,000 rpm的传统台式离心机,如百泰克CK1260 或者类似离心机。
2. 溶胶液/结合液中含有刺激性化合物,操作时要戴乳胶手套,避免沾染皮肤,眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时,要立即用大量清水或者生理盐水冲洗。
3. 回收纯化的DNA片段一般在100bp到10kb之间,过长,过短片段的回收效率迅速降低。
4. 回收的DNA量和起始DNA的量,洗脱体积, DNA片断大小有关。柱子吸附力为8μg,大小为100bp-5kb的DNA片段,回收率可达85% - 95%。
5. 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,更好的选择是使用可见光透射仪(EP2018),可以避免DNA损坏、突变。
6. pH值≤7.5时吸附膜吸附DNA的效率最高,如果切下来的凝胶中含有电泳缓冲液太多造成溶胶后溶胶液pH偏高,会导致回收率降低。溶胶以后如果溶胶液依旧保持黄色,说明pH正常。如果变成橘红色或者淡紫色说明pH偏高,可在胶充分溶解后加5-10μL 左右3M醋酸钠(pH5.2)将pH值调到5-7之间(黄色)。
7. 本试剂盒可以用去离子水洗脱,洗脱效率不受影响。用水洗脱DNA片段应该保存在-20°C。DNA片段如果需要长期保存,可以用TE缓冲液洗脱(10mM Tris-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。
8. 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°C水浴加热几分钟,即可恢复澄清。使用前应该恢复到室温
9. 储存于低温(4°C或者-20°C)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°C - 25°C ) 进行。

### **【疑难解答】**

#### **核酸产量低或者纯度不高**

试剂盒储存在非最佳条件  
缓冲液或者试剂暴露于减少它们有效性的条件下  
漂洗液WB中忘记加无水乙醇  
试剂和要回收溶液如PCR产物没有充分混匀

#### **洗脱后回收率低**

溶胶不彻底，pH值改变，溶胶后溶胶液变色

#### **回收后DNA下游酶切不能切开或者酶切不完全**

一些硅基质膜成分一起洗脱下来，抑制了酶切反应

#### **纯化的DNA产物OD<sub>260</sub>数值异常偏高**

一些硅基质膜成分一起洗脱下来，干扰了分光光度计读数

#### **回收后DNA的浓度太低**

起始的处理材料中DNA含量太低  
回收的片段小于100bp或者大于10kb

#### **回收产量不高**

使用的溶胶/结合液的量不足，溶胶不完全  
洗脱不完全

### **【生产企业】**

企业名称：无锡百泰克生物技术有限公司  
注册地址：无锡惠山经济开发区惠山大道 1719-5 号四层 A 区  
生产地址：无锡惠山经济开发区惠山大道 1719-5 号四层 A 区  
邮政编码：214100  
电话/传真：400-678-8982  
网址：[www.bioteke.cn](http://www.bioteke.cn)

### **【说明书核准及修改日期】**

说明书修改日期 2019 年 01 月 11 日