

**特点:**

Tiosbio® 多功能DNA纯化回收试剂盒采用离心吸附柱纯化核酸，适合从PCR、酶促反应、测序反应的反应液中清洁、回收多至12 μg高纯度DNA（100bp~10kb），回收效率在75%~90%之间，纯化后的DNA不含引物、酶蛋白、单核苷酸、荧光染料或放射性同位素标记的单核苷酸，可用于各种要求的分子生物学实验。

1.离心吸附柱内硅基质膜采用进口特制吸附膜，回收效率稳定、重复性好。

2.溶胶液/结合液 DB具有溶胶液和结合液两种功能，成分不含碘化钠和高氯酸盐，不会抑制下游酶切、连接克隆等反应。

3.溶胶液/结合液 DB加入酚红调制为黄色，可监测 pH 值变化，保证最佳的回收效果。

**包装量及储存条件:**

BT0091S 为 100 次；BT0091L 为 200 次。室温保存，保质期 12 个月。

	BT0091S	BT0091L
溶胶液/结合液 DB	50mL	100mL
漂洗液 WB	25mL*	25mL×2*
洗脱缓冲液 EB	15mL	10mL×2
吸附柱 EC	100个	200个
收集管 (2mL)	100个	200个

\*: 第一次使用前请先在漂洗液WB 中加入指定量无水乙醇，加入后请立即勾选标记表示已加入乙醇，以免多次加入!

**使用方法:**
**1 琼脂糖凝胶 DNA 回收:**

- 1) 长波紫外灯下，用洁净的刀片切下待回收的 DNA 条带，尽量切除不含 DNA 的凝胶，确保切下的凝胶块含有尽可能多的目的核酸片段。
- 2) 将含目的核酸片段的凝胶放入 1.5mL 离心管中称重。
- 3) 加入 3 倍体积溶胶/结合液 DB（如，重 100mg 的凝胶需加入 300μL 溶胶液）。若凝胶浓度大于 2%，应加入 6 倍体积得溶胶/结合液 DB。
- 4) 置于 56℃水浴中 10min（或胶块完全溶解）。每 2~3min 摇动离心管，加速胶块溶解，直至胶块完全溶解。
- 5) 将吸附柱 EC 放入收集管，待步骤 4)所得溶胶液冷却置室温后，加入吸附柱 EC 内，室温放置 1min，12,000rpm 离心 30~60sec，倒掉收集管中的废液。
- 6) 加入 500μL 漂洗液 WB（检查是否已加入无水乙醇!），12,000rpm 离心 30sec，倒掉收集管中的废液。
- 7) 重复操作步骤 6)。
- 8) 将吸附柱 EC 重新放回原来的收集管中，12,000rpm 离心 2min，尽可能去除漂洗液，以免残留的乙醇抑制下游反应。
- 9) 将吸附柱 EC 放入一个新的离心管内，室温放置数分钟。吸附柱 EC 吸附膜的中间部位滴加洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液 EB 经 65~70℃水浴预热，洗脱效果更佳），室温放置 2min，12,000rpm 离心 1min。
- 10) 注意：洗脱体积不应小于 30μL，洗脱液体积过少会降低回收效率。

**2 PCR 产物或者酶切片段等 DNA 纯化:**

- 1) 每 100μL PCR 扩增产物或者酶切产物（若初始产物小于 100μL，需加入双蒸水将体积补至 100μL）加入 500μL 溶胶/结合液 DB，充分混匀。
- 2) 将吸附柱 EC 放入收集管，将第 1 步所得溶液加入吸附柱 EC 中（吸附柱放入收集管中），室温放置 1min，12,000rpm 离心 30~60sec，倒掉收集管中的废液。

- 3) 加入 500 $\mu$ L 漂洗液 WB (检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心 30sec, 倒掉收集管中的废液。
- 4) 重复操作步骤 3)。
- 5) 将吸附柱 EC 重新放回原来的收集管中, 12,000rpm 离心 2min, 尽可能去除漂洗液, 以免残留的乙醇抑制下游反应。
- 6) 将吸附柱 EC 放入一个新的离心管内, 室温放置数分钟。吸附柱 EC 吸附膜的中间部位滴加洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液 EB 经 65~70 $^{\circ}$ C 水浴预热, 洗脱效果更佳), 室温放置 2min, 12,000rpm 离心 1min。
- 7) 注意: 洗脱体积不应小于 30 $\mu$ L, 洗脱液体积过少会降低回收效率。

#### 常见问题:

- 1.所有的溶液均为澄清状态。环境温度较低时, 溶液可能会出现沉淀, 需于 37 $^{\circ}$ C 水浴, 待沉淀消失, 并将溶液恢复至室温后, 方可使用。
- 2.低温 (4 $^{\circ}$ C 或者 -20 $^{\circ}$ C) 储存会导致溶液沉淀, 影响使用效果, 需于室温 (15~25 $^{\circ}$ C) 进行运输和储存。
- 3.长时间暴露于空气中, 会导致试剂挥发、氧化、pH 值变化。使用后应及时盖好装有试剂的盖子。
- 4.溶胶液/结合液 DB 含有刺激性化合物, 操作时要使用乳胶手套, 避免溶胶液/结合液 DB 沾染皮肤、眼睛和衣服。如沾染皮肤、眼睛, 应立即用大量清水或者生理盐水冲洗接触部位。
- 5.可回收纯化 100bp~40kb 的 DNA 片段。过长、过短的核酸回收效率都比较低。DNA 片段大小、回收 DNA 的量、回收后的洗脱体积等均会影响回收效率。1~20 $\mu$ g、长度为 100bp~5kb 的 DNA 片段, 回收率可达到 85%~95%。
- 6.紫外线会损伤 DNA 片段。切胶回收时应使用长波紫外线, 并且尽可能地缩短紫外灯下的处理时间。
- 7.pH 值 $\leq$ 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太多电泳缓冲液, 会影响溶胶后溶胶液的 pH, 降低回收率。溶胶后, 溶胶液依旧保持黄色, 说明 pH 正常; 如溶胶液变为橘红色或者淡紫色, 说明 pH 偏高, 可在胶充分溶解后加 5~10 $\mu$ L 3M 醋酸钠 (pH=5.2) 将 pH 值调到 5~7 (黄色)。
- 8.洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA, 不会影响下游酶切、连接等反应。也可以使用 pH 值 $\geq$ 7.5 的水洗脱, pH 过低会影响洗脱效率。
- 9.用水洗脱的 DNA 片段应保存于 -20 $^{\circ}$ C。长期保存的 DNA 片段应使用 TE 缓冲液洗脱 (10mM Tris-HCl, 1mMEDTA, pH 8.0), 其中的 EDTA 可能影响下游的酶切反应, 使用时可适当稀释。