

版本号: FDJ1222

FinePure Universal DNA Purification Kit

FinePure 通用型 DNA 纯化回收试剂盒

(离心柱型)

目录号: D901

产品内容:

产品组成	FD901 (50 preps)
Buffer BL	30 ml
Buffer PB	25 ml
Buffer DW2	12 ml
Buffer EB	15 ml
FineBind MinElute DNA Spin Columns	50个
2 ml Collection Tubes	50个

储存条件:

该试剂盒置于室温 (15°C-25°C) 干燥条件下, 可保存 12 个月。低温下 Buffer PB 可能会有沉淀形成, 使用前需在 37°C 水浴中重新溶解, 摇匀后使用。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介：

本试剂盒基于离心吸附柱技术，适合于从各种浓度的琼脂糖凝胶中回收 50bp-30Kb DNA 片段。此外，该试剂盒也适合于从 PCR 产物中，酶促反应液中，或由各种方法获得的粗制的 DNA(包括基因组 DNA)中回收纯化 DNA。Buffer PB 含有 pH 指示剂，溶液为黄色，方便判断溶液的 pH 值是否适合与 DNA 吸附柱结合。DNA 回收效率可高达 80%，纯化的 DNA 可直接用于测序、连接、酶切、PCR、标记等。

注意事项：

1. Buffer BL 的加入能够改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性，消除高温/潮湿或其他不良环境因素对吸附柱造成的影响。使用前请先检查 Buffer BL 是否出现浑浊，如有混浊现象，可在 37°C 水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。
2. Buffer PB 含有 pH 指示剂，为黄色，指示 $\text{pH} \leq 7.5$ 。

操作步骤：

使用前请先在 Buffer DW2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

一、从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段

1. 柱平衡步骤：向吸附柱 FineBind MinElute DNA Spin Columns 中（吸附柱放入收集管中）加入 500 μl Buffer BL，12,000 rpm 离心 1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。（请使用当天处理过的柱子）
2. 将单一的目的 DNA 条带从琼脂糖凝胶中切下（尽量切除多余部分）放入干净的离心管中，称取重量。
3. 向胶块中加入等倍体积 Buffer PB（如果凝胶重为 0.1 g，其体积可视为 100 μl ，则加入 100 μl Buffer PB），50°C 水浴放置 10 min 左右，其间不断温和地上下翻转离心管，以确保胶块充分溶解。（若胶块的体积过大，可事先将胶块切成碎块）。

注意：对于回收 <150 bp 的小片段可将 Buffer PB 的体积增加到 3 倍以提高回收率；胶块完全溶解后最好将溶液温度降至室温再上柱，因为吸附柱在室温时结合 DNA 的能力较强。凝胶完全融解后应呈现黄色，即可进行后续操作。如果胶完全融解后溶液的

颜色为桔红色或紫色，请使用 10 μ l 3M 乙酸钠 (pH 5.0) 将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。(Buffer PB 中含有 pH 指示剂，当 pH \leq 7.5 时溶液的颜色为黄色，此时 DNA 才能够有效的与膜结合，当 pH 值偏高时溶液的颜色变为桔红色和紫色，需要进行调整。)

4. 将上一步所得溶液加入到吸附柱中 (吸附柱放入收集管中)，12,000 rpm 离心 30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

注意：吸附柱容积为 700 μ l，若样品体积大于 700 μ l 可分次加入。

5. 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer DW2(使用前请加入无水乙醇)，12,000 rpm 离心 30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。
6. 重复操作步骤 5。
7. 12,000 rpm 离心 3 min。
8. 将吸附柱放入一个干净离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加适量的 Buffer EB (Buffer EB 使用前 65 $^{\circ}$ C 加热 3-5min，提前预热)，室温放置 1 min。12,000 rpm 离心 1 min，收集 DNA 溶液。

注意：洗脱液的体积不应少于 30 μ l，体积过少会影响回收的效率。如果下游实验对 pH 值敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的 pH 值对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)，pH 值低于 7.0 时洗脱效率不高。

二、从 PCR 反应液或酶切反应液中回收 DNA

1. 柱平衡步骤：向吸附柱 FineBind MinElute DNA Spin Columns 中 (吸附柱放入收集管中) 加入 500 μ l Buffer BL，12,000 rpm 离心 1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。(请使用当天处理过的柱子)
2. 计算 PCR 反应液或酶切反应液的体积，向其中加入等倍体积 Buffer PB，充分混匀 (无需去除石蜡油或矿物油)。

注意：对于回收 <150 bp 的小片段可将 Buffer PB 的体积增加到 3 倍以提高回收率；溶液混匀后应呈现黄色，即可进行后续操作。如果溶液的颜色为桔红色或紫色，请使用 10 μ l 3M 乙酸钠 (pH 5.0) 将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。

3. 将上一步所得溶液加入到吸附柱 (吸附柱放入收集管中)，室温放置 2 min，12,000 rpm

离心 30 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放入收集管中。

注意: 吸附柱容积为 700 μl , 若样品体积大于 700 μl 可分次加入。

4. 向吸附柱中加入 500 μl Buffer DW2(使用前请加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 30 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放入收集管中。
5. 重复操作步骤 4 一次。
6. 12,000 rpm 离心 3 min。
7. 将吸附柱放入一个干净的离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加适量的 Buffer EB (Buffer EB 使用前 65 $^{\circ}\text{C}$ 加热 3-5min, 提前预热), 室温放置 1 min。12,000 rpm 离心 1 min, 收集 DNA 溶液。

注意: 洗脱液的体积不应少于 30 μl , 体积过少会影响回收的效率。如果下游实验对 pH 值敏感, 可以用灭菌水洗脱。洗脱液的 pH 值对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), pH 值低于 7.0 时洗脱效率不高。