



## MiniElut DNA-Pure Kit PCR/酶切产物清洁试剂盒

### 产品简介

本试剂盒采用独特的离心吸附柱纯化酶切、PCR等反应溶液中的DNA片段，同时除去蛋白质、其它有机化合物、无机盐离子及寡核苷酸引物等杂质。本试剂盒适用于回收100 bp - 40 kb，起始量为1-5  $\mu$ g的DNA片段，回收率可达80%以上（<100 bp 或>10kb 的DNA片段回收率为30-50%）。使用本试剂盒回收的DNA 可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

### 试剂盒组成

产品编号	C4101	C4105	C4106
次数	5	50	100
纯化柱子	5	50	100
收集管	5	50	100
Buffer DPX	2 ml	15 ml	25 ml
DNA Wash Buffer	2 ml	20ml	2x20ml
Elution Buffer	--	20ml	30ml
说明书	1	1	1

Elution Buffer: 10mM Tris pH 8.0

### 储存和稳定性

在购买后储存于15-25度可以保存至少24个月。Buffer DPX在不使用的情况下瓶底可能会出现沉淀，加热到37度溶解沉淀。

### 产品特点

- 快速：整个操作过程快速方便，几十分钟即可完成回收工作。
- 多样：可以回收单链、双链DNA 片段以及环状质粒DNA。
- 高效：独特的离心柱和精心配制的缓冲液，保证最大量回收到高纯度的目的DNA。

### 注意事项

- 试剂盒适用于无选择性的回收溶液中所有DNA 片段，如需选择性回收特定片段，同时去除其他不同大小片段，请选择胶回收试剂盒(#C3105)。
- MiniElut DNA-Pure Kit适合于纯化1-5 $\mu$ g左右的DNA样品；如回收前有5-10 $\mu$ g 左右DNA，则应选用常规型DNA-Pure Kit(#C2105)。
- 第一次使用前应向DNA Wash Buffer中加入无水乙醇：C4101加入8ml；C4105加入52ml；C4106加入104ml。

### 操作步骤

1. 估计PCR 反应液或酶切反应液的体积，向其中加入1.5倍体积的Buffer DPX（无需去除石蜡油或矿物油）。如果PCR产物体积小于20 $\mu$ l，则需用灭菌去离子水补加到20 $\mu$ l，再加入30 $\mu$ l Buffer DPX。
2. 将上一步所得溶液加入一个GBC吸附柱中（吸附柱放入收集管中），室温放置2分钟，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g)离心30秒，倒掉收集管中的废液，将GBC吸附柱放入收集管中。

注意：吸附柱容积为800 $\mu$ l，若样品体积大于800 $\mu$ l可分批加入。

3. 向GBC吸附柱 中加入600 $\mu$ l DNA Wash Buffer（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g)离心30秒，倒掉收集管中的废液，将GBC吸附柱放入收集管中。
4. 向GBC吸附柱 中加入600 $\mu$ l DNA Wash Buffer，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g)离心30-60秒，倒掉收集管中的废液。

5. 将GBC吸附柱放回收集管中，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g)离心1 分钟，尽量除去漂洗液。

注意：Wash Buffer 中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。

6. 将GBC吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加15-25 $\mu$ l Elution Buffer，室温放置2分钟。12,000 rpm (~13,400 $\times$ g)离心1 分钟收集DNA 溶液。

注意：洗脱液的体积不应少于15  $\mu$ l，体积过少会影响回收的效率。洗脱液的pH 值对于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 范围内(可以用NaOH 将水的pH 值调到此范围)，pH 值低于7.0 会降低洗脱效率；且DNA 产物应保存在-20  $^{\circ}$ C以防降解。

### DNA浓度及纯度检测

回收得到的DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在OD260 处有显著吸收峰，OD260 值为1 相当于大约50  $\mu$ g/ml双链DNA、40  $\mu$ g/ml单链DNA。OD260/OD280 比值应为1.7~1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

### 可能出现的问题与对策

可能问题	可能原因	建议
低 DNA 产量	于样品中加入的 Buffer DPX 量太少	请按照使用说明加入足够量的 Buffer DPX. 若 DNA 片段长度小于 100bp, 加入 6 倍体积的 PP 缓冲液; 若 DNA 片段长度大于 4kb, 则加入 3 倍体积的 PP 缓冲液和 1 倍体积的双蒸水。
无 DNA	DNA Wash Buffer 没有用无水乙醇稀释	按照说明书用无水乙醇稀释 DNA Wash Buffer。
OD 值与琼脂糖凝胶中的 DNA 产量不相符	从柱子上洗脱下来的痕量杂质增加了 A260 的值	确保按照步骤 3 和 4 的方法来洗涤柱子; 另一方面, 还取决于琼脂糖/EB 电泳的质量。
点样时样品漂出孔外	在洗涤完之后没有把柱上的乙醇完全除去	按步骤 5 的说明离心柱子以甩干空柱, 然后再进行下面的洗脱步骤。

### 可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G3422	DAB 染色液	100ml
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2
G3424	RIPA 裂解液	100ml
P0018	ECL 发光液	100ml
G3418	TMB Solution For Blotting	100ml
G4308	TMB solution For Elisa	100ml
G3005	30%丙烯酰胺 (29:1)	500ml
G3403	40%丙烯酰胺 (37.5:1)	500ml
G0528	4%多聚甲醛	500ml
G3422	BCA 蛋白浓度测定试剂盒	500T
G3155	Bradford 蛋白浓度测定试剂盒	1000T
G4256	10X 丽春红染色液	10ml