

DNA纯化和浓缩试剂盒

(使用说明书 Ver.1.1.0)

产品说明

- ✧ 从PCR、酶反应和其他来源快速、高通量地回收超纯DNA。
- ✧ DNA可以在仅有10 μ l的情况下被洗脱，非常适用于DNA连接、测序、标记、PCR、微阵列、转染、转化及限制性消化等应用。

产品货号：

TD4023 (2 $\times$ 96次反应) TD4024 (4 $\times$ 96次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	1
产品描述	2
产品规格	2
产品应用	3
溶液制备	3
附录	4
FAQ常见问题及解决方法	5
组件查询	5

产品组份

试剂盒组成	TD4023 (2x96次)	TD4024 (4x96次)	保存
DNA结合液	100ml	2×100ml	室温
DNA洗涤液	24ml	48ml	室温
DNA洗脱液	10ml	16ml	室温
96 孔收集纯化板	2块	4块	室温
96孔U底洗脱纯化板	2块	4块	室温
96孔深孔纯化板	2块	4块	室温

DNA洗涤液标签上指示使用前必须加入乙醇。

注意事项

- ✧ 本产品自售出之日起提供一年质量保证。所有试剂均通过严格质量检测，确保性能稳定可靠。
- ✧ 本产品仅供专业研究人员在受控环境下使用。操作人员须佩戴防护手套及护目装置等个人防护装备，并严格遵守所在机构的安全操作规程。请注意，部分试剂可能具有刺激性，使用时需特别谨慎。
- ✧ 避免试剂长时间暴露于空气中，以防挥发、氧化或pH值变化，使用后请立即盖紧瓶盖，并按照说明书要求妥善储存。

产品特性

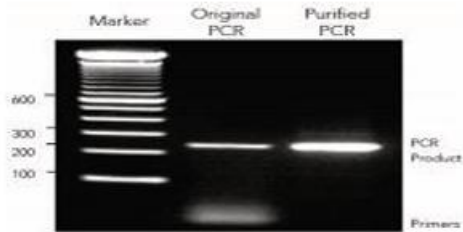
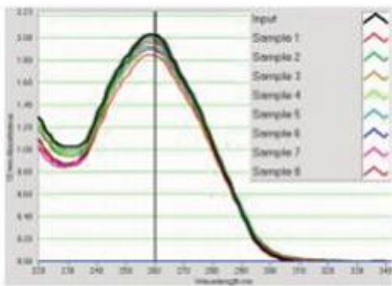
- ✧ DNA纯度:高质量的DNA(A260/280≥1.8)，非常适合连接、测序、标记、PCR、微阵列、转染、转化和限制性消化等实验。
- ✧ DNA大小限制:从约50bp到23 kb。
- ✧ DNA回收:通常每个孔最多可洗脱5μg总DNA至少量的10μl低盐 DNA洗脱液或水中。对于50 bp到10kb的DNA，回收率为70-90%。对于11kb到23 kb的DNA，回收率为50-70%。
- ✧ 样品来源:来自酶反应(例如PCR、限制性核酸内切酶消化)、质粒制备和不纯净制备的DNA。适用于存储在DNA/RNA保护剂中的分离DNA。
- ✧ 产品对洗涤剂的耐受性:≤5% Triton X-100、≤5% Tween-20、≤5% Sarkosyl、≤ 0.1% SDS。

产品描述

DNA回收纯化试剂盒提供了一种方便快捷的方法，用于从PCR、核酸酶消化、细胞裂解液和其他不纯净的DNA制备中快速、高通量地纯化和浓缩高质量的DNA。它还可用于RT后cDNA纯化和从M13噬菌体中纯化出可用于测序的DNA。只需将专门配制的DNA结合液加入样品中，然后转移到提供的96孔深孔纯化板的孔中。无需有机变性剂或氯仿。相反，该产品采用了快速纯化柱技术，可在短短几分钟内纯化得到不含盐和污染物的DNA。使用该试剂盒纯化的DNA适用于测序、微阵列分析、PCR和限制性核酸内切酶消化等实验。



96 DCC®-5 procedure



纯净且浓缩的DNA

如此处所示的PCR产物等DNA样品可以通过DNA回收纯化试剂盒进行高效纯化和浓缩。

96 DCC®-5 提供纯净可靠的回收。此处显示的是将1µg的100 bp标记DNA洗脱至10µl水，并使用NanoDrop®分光光度计进行分析的回收情况。DNA Clean & Concentrator®-5可一致性地回收>90%的输入DNA。

产品规格

DCC®-5	DCC®-25	DCC®-100	DCC®-500	基因组 DCC®	96DCC®-5
容量 5µg/prep	25µg/prep	100µg/prep	500µg/prep	10µg/prep	5µg/prep
洗脱体积 ≥6µl	≥25µl	≥150µl	≥2ml	≥10µl	≥10µl

产品应用

PCR后DNA纯化	高效去盐，去除DNA聚合酶、引物和游离dNTPs。
酶反应中的DNA纯化	高效去盐，去除修饰酶、RNA聚合酶、连接酶、激酶、核酸酶、磷酸酶、核酸内切酶等。
反转录(RT)后 的cDNA 纯化	高效地在RT后纯化DNA，可以是DNA/RNA复合物，也可以是在RNA模板的化学水解后形成的单链cDNA。
质粒DNA纯化	高效地从“自制”的细胞裂解液或商业试剂盒中纯化质粒DNA。使用DCC®纯化和浓缩的质粒DNA已被证明是优质DNA测序底物。
同位素和染料去除	高效去除体外标记反应后DNA中未结合的荧光(例如，AMCA、FITC、BIO、DIG、Cy3、Cy5、FAM等)和放射性标记的dNTP衍生物。
M13单链DNA的纯化	DCC®可用于直接从噬菌体感染的大肠杆菌培养上清液中快速分离单链M13噬菌体DNA。

- ✧ 长度≥ 16 nt的短寡核苷酸（DNA或RNA），请使用Oligo Clean & Concentrator™ (TD4060、TD4061)。
- ✧ 对于 ChIP(染色质免疫沉淀)样品清理，请使用ChIP DNA Clean& Concentrator®(TD5201、TD5205)从标准ChIP协议中的任何步骤获得高质量的DNA。
- ✧ 对于循环测序样品，请使用SequencingDNA Clean-up Kit™(TD4050、TD4051)进行染料斑点消除。
- ✧ 对于含有 PCR抑制剂的样品，请使用OneStep™PCR Inhibitor Removal Kit(TD6030、TD6035)。

溶液制备

开始之前:将96毫升100%乙醇(104毫升95%乙醇)加入24 毫升DNA洗涤液浓缩液中。

将192毫升100%乙醇(208毫升95%乙醇)加入48毫升DNA洗涤液浓缩液中。

✧ 样品处理

所有离心步骤应在3,000-5,000xg之间进行。

1. 向每单位体积 DNA样品加入2-7倍体积的DNA结合液(详见下表)，并轻轻振荡混匀。

应用	DNA结合液:样品	示例
质粒、基因组DNA(>2 kb) ²	2:1	200µl: 100µl
PCR产物、DNA片段	5:1	500µl: 100µl
ssDNA ³ (例如cDNA、M13噬菌体)	7:1	700µl: 100µl

- 2.将样品混合物转移到安装在收集板中的96孔深孔纯化板的孔中。
- 3.离心5分钟，直到完全过滤样品混合物。丢弃流通过的液体。
- 4.向96孔深孔纯化板的每个孔中加入300µlDNA洗涤液。离心5分钟。重复洗涤步骤，离心 15分钟。(或者，可以使用600µlDNA洗涤液进行一次洗涤)。

5.向每个孔的柱基质中直接加入 $\geq 10\mu\text{l}$ DNA洗脱液或水。将96孔深孔纯化板转移到洗脱板上，离心3分钟以洗脱DNA。超纯DNA现已准备就绪。

注:

- 1.对所有 $\leq 50\mu\text{l}$ 的样品至少添加 $100\mu\text{l}$ DNA结合液。
- 2.为了高效回收 $>20\text{kb}$ 的DNA，请使用DNA回收纯化试剂盒-5(96孔板)(TD4066,TD4067)。
- 3.对于 ssDNA纯化，请参阅附录A。
4. 96孔深孔纯化板每个孔的容量约为 $800\mu\text{l}$ 。收集板每个孔的容量约为 1.1ml 。因此，如果样品体积大于 $800\mu\text{l}$ ，可能需要多次加载和离心板。
- 5.DNA洗脱液:10mM Tris-HCl, pH 8.5, 0.1mM EDTA。
- 6.从纯化柱中洗脱DNA取决于pH和温度。如果使用水，请确保 $\text{pH}>6.0$ 。在洗脱之前等待1分钟可能会提高较大片段($>6\text{ kb}$)DNA的产量。对于更大的DNA($>10\text{kb}$)，可以使用 $60-70^\circ\text{C}$ 的 DNA洗脱液提高总产量。

附录

◇ cDNA清洗

DCC®套件可有效清洗和浓缩反转录(RT)后的cDNA($>500\text{nt}$)，无论是否存在荧光染料。使用DCC®可以有效去除未结合的游离核苷酸和荧光衍生物，并且回收的cDNA可以直接用于微阵列分析、第二链cDNA合成或使用荧光染料（如 NHS ester Cy3 或 Cy5）间接标记。

对于纯化短cDNA或ESTs($\geq 16\text{nt}$)，我们建议使用Oligo Clean& Concentrator(货号TD4060、TD4061)。

◇ 水解

- 1.向 $50\mu\text{l}$ RT反应中加入 $10\mu\text{l}$ 0.5 M EDTA和 $10\mu\text{l}$ 1 N NaOH。根据RT反应的起始体积，EDTA和NaOH的体积应按比例缩放。
- 2.在 65°C 孵育 15分钟。

◇ 清洗

- 1.向上述水解反应中加入 $490\mu\text{l}$ (7倍体积)的DNA结合液。混匀。RNA水解后，中和(pH) 不是必要的，因为DNA结合液将有效中和加入反应中的NaOH。
- 2.继续执行第3页的样品处理的第2步。

◇ M13 噬菌体 ssDNA 纯化

- 1.将噬菌体感染的细菌培养物以 $8,000\times g$ 离心1分钟。
- 2.将含噬菌体的上清液中的 $100\mu\text{l}$ 转移到 1.5ml 微量离心管中，并加入 $700\mu\text{l}$ (7倍体积)的DNA结合液。轻轻振荡混合。如果上清液体积增加，可以通过相应增加DNA结合液的量来处理。
- 3.继续执行第3页的样品处理的第2步。

◇ RNase A 处理

将RNaseA(TE1008-30, 单独销售), 溶解在无DNase/RNase水或TE中, 制备 10 mg/ml 的储备液。

- 1.向样品中加入足够的 10mg/ml RNaseA，使最终浓度为 $10-100\mu\text{g/ml}$ ，并充分混合。

- 2.室温孵育 15分钟。
 - 3.继续执行第3页的样品处理的第1步。
- 注:使用 DNA/RNA保护剂将样品体积调整至50μl(最小值)。

FAQ常见问题及解决方法

Q: 问题	A: 可能的原因和建议的解决方案
低回收率	✧ 错误制备/存储的DNA洗涤液。确保已向DNA洗涤液浓缩液中加入乙醇。紧密盖上瓶盖，防止随时间的蒸发。 ✧ 加入DNA洗脱液。将洗脱液直接加入到柱状基质中，而不是加入到纯化柱壁上。对于 ≥ 10kb的长DNA片段，洗脱液需要与基质接触至少1分钟。 ✧ 不完全洗脱。DNA的洗脱取决于pH值、温度和时间。对于长的基因组DNA(≥ 50 kb)，在洗脱之前将加热的洗脱液(60-70°C)加到纯化柱上，并孵育几分钟。可以进行连续的洗脱以获得更高的回收率，但最终DNA浓度较低。这适用于大于或等于10 kb的DNA。
低A260/A230比率	✧ 纯化柱受到污染。在从收集管中取出纯化柱时，要小心纯化柱的底部不要接触到滤液。滤液中微量的盐可能会污染样品，导致A260/A230比率低。滤液中的乙醇污染也可能影响DNA的洗脱。 ✧ 纯化柱设计为完全洗脱，无液残留或带入。
使用DCC®进行纯化回收后，在琼脂糖凝胶中出现多个条带。	✧ DNA加载染料的酸化。大多数加载染料不含EDTA，随着时间的推移，由于一些微生物的生长，其会酸化(pH≤4)。这种低pH足以导致DNA降解。因此，如果水被用于洗脱DNA，则建议使用含有1mM EDTA的6X加载染料。

组件查询

组件名称	货号	规格	保存
DNA 结合液	TD4003-1-100	100ml	室温
DNA洗涤液	TD4003-2-24	24ml	室温
	TD4003-2-48	48ml	
DNA洗脱液	TD3004-4-10	10ml	室温
	TD3004-4-16	16ml	
96孔收集纯化板	TC2002	2块/包	室温
96孔U底洗脱纯化板	TC2003	2块/包	室温
96孔深孔纯化板	TC2004	2块/包	室温