

# GTpure™ Gel/PCR DNA纯化试剂盒

## 一、试剂盒组成

Cat.NO.	106-050
包装	50 次
离心柱 C132	50 个
收集管	50 个
UP Buffer	15ml
GD Buffer	50ml
WA Buffer	10ml
DE Buffer	10ml
说明书	1 份

## 二、产品贮存

试剂盒所有组分在室温（15-25 度）干燥条件下可保存 2 年。

## 三、产品说明

琼脂糖类型	常规或低熔点
电泳缓冲液	TAE 或 TBE
处理琼脂糖凝胶最大重量	400mg
最大 DNA 吸附量	12ug
最小洗脱体积	30ul
最小回收片段	70bp
典型的 DNA 回收效率	
70bp-100bp	70-80%
1kb	80-90%
5kb	75-85%
10kb-20kb	70-80%
下游应用	测序、克隆、连接、限制性酶切和扩增等

## 四、使用前注意事

1. 检查 GD Buffer 中是否有沉淀，若有沉淀请于 37°C 水浴充分溶解。
2. 向 WA Buffer 中加入 40ml 无水乙醇，室温密闭保存。

## 五、操作步骤

### 【从凝胶中回收 DNA】:

1. 加入 250μl UP Buffer 至离心柱 C132，16,000 × g 离心 60sec 弃废液。  
\* 此步有助于增强离心柱对 DNA 的吸附作用，请在 24h 内使用该离心柱。
2. 在紫外灯下切下含有目的 DNA 片段的凝胶。  
\* 切除多余的凝胶，使胶块重量尽量小。
3. 将胶块放在 1.5ml 离心管中称重。  
\* 如果胶块重量大于 400mg 需将胶块分装到两个离心管中。
4. 每 1 体积 1%琼脂糖凝胶加入 3 倍体积的 GD Buffer（100mg 凝胶，体积可视为 100μl）。对于 2%的凝

胶，需加入 6 倍体积的 GD Buffer。

**\* 例如，100mg 1%的琼脂糖凝胶加入 300 $\mu$ l GD Buffer。100mg 2%的琼脂糖凝胶加入 600 $\mu$ l GD Buffer。**

**\* 凝胶浓度在 1%与 2%之间按照以上的比例计算加入 GD Buffer 的体积。**

5. 将胶块置于 56°C 孵育不超过 10min，每 2-3min 上下翻转离心管混匀。

**\* 如果是 2%的凝胶，需要延长孵育时间至完全溶解。**

6. 1%的琼脂糖凝胶加入 2 倍胶体积的异丙醇，2%的琼脂糖凝胶加入 4 倍体积的异丙醇，充分混匀。

**\* 例如，100mg 1%的胶块加入 200 $\mu$ l 异丙醇。**

7. 将 C132 离心柱放入收集管中。

8. 将样品转移至离心柱中，16,000  $\times$  g 离心 30sec。

**\* 离心柱承载的最大体积为 800 $\mu$ l，如果样品的体积大于 800 $\mu$ l，可重复该步骤。**

9. 弃废液，将离心柱放回收集管中。

10. 加入 700 $\mu$ l WA Buffer，16,000  $\times$  g 离心 30sec。弃废液，将离心柱放回收集管中。

**\* 请确保 WA Buffer 已按要求加入无水乙醇。**

11. 16,000  $\times$  g 再离心 1min。

**\* 再次离心是为了充分去除残留在膜上的乙醇，残留的乙醇会抑制下游的应用。**

12. 将离心柱放入一个干净的 1.5ml 的离心管。

13. 直接在吸附膜的中央部位加入 50 $\mu$ l DE Buffer，16,000  $\times$  g 离心。

**\* 如需较高浓度的 DNA，可使用较少的 DE Buffer 体积，但最少不低于 30 $\mu$ l。**

**\* DE Buffer 不含有 EDTA。EDTA 会抑制后续的酶反应。**

14. 放置 1min 后，16,000  $\times$  g 再离心 1min。

**\* 将 DNA 洗脱液再次转入离心柱中进行重复洗脱有助于增加质粒 DNA 的产量。**

**\* 70 度预热的 DE Buffer 有助于提高 DNA 洗脱效率。**

### 【从 PCR 产物中纯化 DNA】:

1. 加入 250 $\mu$ l UP Buffer 至离心柱 C132，16,000  $\times$  g 离心 60sec 弃废液。

**\* 此步有助于增强离心柱对 DNA 的吸附作用，请在 24h 内使用该离心柱。**

2. 每一体积 PCR 产物加入 3 倍体积的 GD Buffer。

**\* 例如，100 $\mu$ l PCR 产物加入 300 $\mu$ l GD Buffer。**

3. 向上述混合物中加入 2 倍胶体积的异丙醇，充分混匀。

**\* 请务必混合均匀，以免影响回收效率！**

3. 将 C132 离心柱放入收集管内。

4. 将混合物转移至离心柱中，16,000  $\times$  g 离心 30sec。

**\* 离心柱承载的最大体积为 800 $\mu$ l，如果样品的体积大于 800 $\mu$ l，可重复该步骤。**

5. 弃废液，将离心柱放回收集管中。

6. 在离心柱中加入 700 $\mu$ l WA Buffer，16,000  $\times$  g 离心 30sec。

**\* 请确保 WA Buffer 已按要求加入无水乙醇。**

7. 弃废液，将离心柱放回收集管中。

8. 16,000  $\times$  g 再离心 1min。

**\* 再次离心是为了充分去除残留在膜上的乙醇，残留的乙醇会抑制下游的应用。**

9. 将离心柱放入一个干净的 1.5ml 的离心管。

10. 直接在吸附膜的中央部位加入 50 $\mu$ l DE Buffer，16,000  $\times$  g 离心。

**\* 如需较高浓度的 DNA，可使用较少的 DE Buffer 体积，但最少不低于 30 $\mu$ l。**

**\* DE Buffer 不含有 EDTA。EDTA 会抑制后续的酶反应。**

11. 放置 1min 后，16,000  $\times$  g 再离心 1min。

**\* 将 DNA 洗脱液再次转入离心柱中进行重复洗脱有助于增加质粒 DNA 的产量。**

**\* 70 度预热的 DE Buffer 有助于提高 DNA 洗脱效率。**