

## HiPure Gel Pure DNA 96 Kit

### 琼脂糖凝胶 DNA 回收试剂盒

#### 产品简介

HiPure Gel Pure 96 Kit可高通量从96个琼脂糖凝胶样品中回收60bp-20Kbp 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。试剂盒采用硅胶板纯化技术，可确保在40-50分钟完成96个样品纯化工作。DNA回收效率可高达80%，纯化的DNA可直接用于自动测序，连接，酶切，PCR，标记等。

#### 产品组份

Cat.No.	D2112-01	D2112-02	D2112-03
Package	1 x 96 Preps	4 x 96 Preps	20 x 96 Preps
Buffer GDP	80 ml	220 ml	3 x 400 ml
Buffer DW1	40 ml	150 ml	2 x 350 ml
Buffer DW2*	50 ml	2 x 100 ml	7 x 100 ml
Elution Buffer	20 ml	60 ml	250 ml
HiPure DNA Plate	1	4	20
1.6 ml Collection Plate	1	4	20
0.5ml Collection Plate	1	4	20

版本号：202401

#### 保存条件

本产品可以室温保存 18 个月。低温下，Buffer GDP 可能有沉淀出来，使用时须加热至55℃使沉淀溶解。

## 准备工作

- 在Buffer DW2中，加入适量的无水乙醇，并于室温保存。
- 96孔板离心机(>3,000 × g)
- 水浴锅温度设至50-55°C

## 实验步骤 1: 离心方案

1. 配制合适浓度的琼脂糖凝胶，电泳分离DNA片段。当DNA片段分离后，把凝胶放置于紫外灯下，快速切下含目的DNA片段的凝胶，并尽量去除多余的凝胶。
2. 在96孔深孔板中，每孔加入不超过400mg凝胶块或不超过400µl PCR反应液、酶促反应液或DNA提取液，或粗制的DNA溶液。

处理PCR产物和酶促反应液时：转移25~400µl产物至96孔板，总体积不要超过400µl。

处理粗制DNA产物时，转移50~400µl产物至96孔板，用水补足至400µl。

3. 加入500µl Buffer GDP至样品孔，贴上封口膜，在桌面上快速来回划动混匀，50-55°C温育10~15分钟直至凝胶块完全溶解。

温育期间，在桌面上快速来回划动混匀样品2~3次加速凝胶溶化。

回收PCR产物、酶促反应液，或粗制DNA产物时，无需加热，贴上封口膜后，颠倒混匀数次，室温放置5-10分钟灭活酶分子。

4. 将HiPure DNA Plate套在1.6ml收集板上，把全部熔胶液或混合液转移至结合板的孔中。3,000~5,000 × g离心3分钟。

5. 倒弃滤液，把结合板套回收集板上，每孔加入300µl Buffer DW1，静置2分钟。

3,000~5,000 × g离心3分钟。

倒弃滤液，把结合板套回收集板上。加入750µl Buffer DW2至柱子中，3,000~5,000 × g离心3分钟。

Buffer DW2使用前，按瓶子上的标签指示用无水乙醇稀释。

6. 倒弃滤液，把结合板套回收集板中，加入750µl Buffer DW2至柱子中，3,000~5,000 × g离心3分钟。

7. 倒弃滤液，把结合板套回收集板中， $3,000\sim 5,000 \times g$ 离心3分钟。取下结合板，放置 $55^{\circ}\text{C}$ 烘箱中干燥10分钟。

8. 把结合板放在0.5ml收集板中，加入60~100 $\mu\text{l}$  Elution Buffer或灭菌水至柱子膜中央。放置3分钟。 $>3,000 \times g$ 离心3分钟。

为充分洗脱出DNA，减少洗脱液损耗，这一步离心速度最好超过 $4500 \times g$ 。 $4500 \times g$ 离心洗脱时约为15 $\mu\text{l}$ 洗脱液损失。若需要获得最高产量，建议重复第8步进行第二步洗脱。若回收大于5KB以上片段时，最好把Elution Buffer预热至 $55^{\circ}\text{C}$ ，并重复2次洗脱。重复洗脱时，把得到洗脱液再转移至柱子进行第二次洗脱，以获得高浓度DNA。Elution Buffer成分为10mM Tris,pH8.5可以用Buffer TE或灭菌水(pH $>6.5$ )代替。

加热浓缩DNA：把洗脱板放置于 $50\sim 55^{\circ}\text{C}$ 烘箱干燥30~60分钟蒸发水份来浓缩DNA，若水份完全挥发后，补加入20~30 $\mu\text{l}$  Elution Buffer至孔中，贴上封口膜，振荡数分钟溶解DNA。

## 实验步骤 2：抽滤方案

1. 配制合适浓度的琼脂糖凝胶，电泳分离DNA片段。当DNA片段分离后，把凝胶放置于紫外灯下，快速切下含目的DNA片段的凝胶，并尽量去除多余的凝胶

2. 在96孔深孔板中，每孔加入不超过400mg凝胶块或不超过400 $\mu\text{l}$ 酶促反应液。

处理PCR产物和酶促反应液时：转移50~400 $\mu\text{l}$ 产物至96孔板，总体积不要超过400 $\mu\text{l}$ 。

处理粗制DNA产物时，转移50~400 $\mu\text{l}$ 产物至96孔板。样品体积低于150 $\mu\text{l}$ ，用水补足至400 $\mu\text{l}$ 。

3. 加入500 $\mu\text{l}$  Buffer GDP至样品孔，贴上封口膜，在桌面上快速来回划动混匀样品， $50\sim 55^{\circ}\text{C}$ 温育10~15分钟直至凝胶块完全溶解。

温育期间，在桌面上快速来回划动混匀样品2~3次加速凝胶溶化。

回收PCR产物、酶促反应液，或粗制DNA产物时，无需加热，贴上封口膜后，颠倒混匀数次，室温放置5-10分钟灭活酶分子。

4. 把废液收集槽放在抽滤盒底盒的内部。盖上抽滤盒的上盖，把HiPure DNA Plate放在抽滤盒上盒的内槽中。连接好真空泵和抽滤盒。

5. 把第3步的混合液转移至结合板中。打开真空泵，用手压紧结合板。压力上升后松开手。溶液过滤完毕后，关闭真空泵。

6. 当压力降至零时，每孔加入300 $\mu$ l Buffer DW1，静置3分钟。打开真空泵，用手压紧结合板。压力上升后松开手，溶液过滤完毕后，关闭真空泵。
7. 当压力降至零时，每孔中加入750 $\mu$ l Buffer DW2，打开真空泵，用手压紧结合板。压力上升后松开手。  
Buffer DW2使用前，按瓶子上的标签指示用无水乙醇稀释。
8. 溶液过滤完毕后，每孔中加入750 $\mu$ l Buffer DW2。
9. 溶液过滤完毕后，每孔中加入500 $\mu$ l 无水乙醇。溶液过滤完毕后，关闭真空泵。
10. 取下结合板，把结合板放在收集板上。 $>3,000 \times g$ 离心10分钟。取下结合板，放置55 $^{\circ}$ C烘箱中干燥10分钟。
11. 把结合板放在0.5ml收集板中，加入60~100 $\mu$ l Elution Buffer或灭菌水至柱子膜中央。放置3分钟。 $>3,000 \times g$ 离心3分钟。

为充分洗脱出DNA，减少洗脱液损耗，这一步离心速度最好超过4500  $\times g$ 。4500  $\times g$ 离心洗脱时约为15 $\mu$ l洗脱液损失。若需要获得最高产量，建议重复第11步进行第二步洗脱。若回收大于5KB以上片段时，最好把Elution Buffer预热至55 $^{\circ}$ C，并重复2次洗脱。重复洗脱时，把得到洗脱液再转移至柱子进行第二次洗脱，以获得高浓度DNA。Elution Buffer成分为10mM Tris,pH8.5可以用Buffer TE或灭菌水(pH $>6.5$ )代替。

加热浓缩DNA：把洗脱板放置于55 $^{\circ}$ C烘箱干燥30~60分钟蒸发水份来浓缩DNA，若水份完全挥发后，补加入20~30 $\mu$ l Elution Buffer至孔中，贴上封口膜，振荡数分钟溶解DNA。