

## Kit Contents

Catalog#	DC3531-00	DC3531-01	DC3531-02
Preps	2	10	25
ezBind™ Maxi Columns	2	10	25
Buffer GC	100mL	500 mL	1250 mL
DNA Wash Buffer*	15 mL	54 mL	2×54 mL
Elution Buffer	6 mL	30 mL	60 mL
50mL Collection Tubes	2	10	25
User Manual	1	1	1

\*Add 60 mL (DC3531-00) or 216 mL (dc3531-01) or 216 mL (DC3531-02) 96-100% ethanol to each DNA Wash Buffer bottle before use.

Buffer GC may form precipitates under cool ambient condition. Warm up the buffer at 37°C to dissolve before use.

# 琼脂糖凝胶/PCR产物纯化步骤（DC3531）

## 实验前准备：

- 第一次使用本产品，请按照瓶子上的标签或者以下标准加入无水乙醇到 DNA Wash Buffer 中。  
DC3531-00: 加入60 mL 无水乙醇到DNA Wash Buffer中。  
DC3531-01: 加入216 mL 无水乙醇到DNA Wash Buffer中。  
DC3531-02: 每瓶DNA Wash Buffer中加入216 mL 无水乙醇。
- 1 g 的凝胶只需要 1 mL Buffer GC。
- Buffer GC 在低温运输或者保存过程中可能会生成沉淀，如果有沉淀生成，请在 37 °C 溶解再使用。
- 洗脱前，在 55-60 °C 水浴预热 Elution Buffer。

## 操作步骤

请使用新鲜配制的TAE或者TBE缓冲液，使用多次的缓冲液pH会偏高从而影响DNA回收效率或带来污染。

1. **琼脂糖凝胶产物纯化：**从凝胶上割下带有目的片段的凝胶块到一个50mL离心管中，加入**1倍体积的Buffer GC**（称量或者估算凝胶的重量，确保加入不少于1倍体积的Buffer GC），置于55-60 °C水浴中8-10分钟左右，期间颠倒混匀几次，直至凝胶块完全溶化。冷却离心管至室温。

**PCR产物纯化：**加入**2倍体积的 Buffer GC**（如100 $\mu$ L的PCR反应液，加入200 $\mu$ L Buffer GC），混合混匀。瞬时离心，将溶液收集到底部。纯化小于200 bp 的片段，加入5倍体积的Buffer GC到1倍体积的PCR反应液。

**注意：**1g凝胶块需加入1mL的Buffer GC，确保加入不少于1倍体积的Buffer GC。

**注意：**纯化小于200 bp 的片段，加入1倍体积的异丙醇（1 g凝胶块或1mLPCR反应液，加入1mL的异丙醇）。

2. 转移以上混合液至一个带有离心管的Maxi column中，室温下，13,000 x g下离心1分钟，弃废液，将离心柱放回收集管中。重复步骤“2”，直至混合液全部通过吸附柱。
3. 加入**5mL DNA Wash Buffer** 至吸附柱中，室温下在10,000 x g下离心1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回到收集管中。重复步骤3。

**注意：** DNA Wash Buffer 作为浓缩液提供，使用前确保加入无水乙醇。

4. 室温下，10,000 x g，将吸附柱开盖离心2分钟，去除残留的乙醇。  
注意：开盖离心更有利于乙醇的去除，乙醇的残留将影响下游实验，可以适当延长离心时间，并且离心后开盖空气中放置几分钟。
5. 转移吸附柱至50mL离心管中，加入 **1-1.5mL** 60°C 预热的 **Elution Buffer (10mM Tris-HCl, pH8.5)** 或ddH<sub>2</sub>O到吸附柱膜中央，室温放置2分钟。13,000 x g 离心1分钟以洗脱DNA。如果想提高收获量，将洗脱液加回到吸附柱中重新洗脱一次。

注意：将洗脱液置于60 °C预热，加入洗脱液后吸附柱置于60°C放置5分钟后再进行洗脱，将会显著提高DNA回收率。

注意：对大于8kb的片段，加入洗脱液后将吸附柱置于60°C放置15分钟后再进行洗脱，将会显著提高DNA回收率。

注意：第一次洗脱会收集到约60-70%的DNA，将洗脱液加回到柱子中进行二次洗脱，将会收集到另外20%的DNA，DNA回收率可以达到90%以上。DNA回收率会片段大小不同而有差异。

## Limited Use and Warranty

This product is warranted to perform as described in its labeling and in Biomiga's literature when used in accordance with instructions. No other warranties of any kind, express or implied, including, without limitation, implied warranties of merchantability or fitness for a particular purpose, are provided by Biomiga. Biomiga's sole obligation and purchaser's exclusive remedy for breach of this warranty shall be, at the option of Biomiga, to replace the products, Biomiga shall have no liability for any direct, indirect, consequential, or incidental damage arising out of the use, the results of use, or the inability to use it product.

**\* FOR RESEARCH USE ONLY.**

## Trouble Shooting Guide

<b>Problems</b>	<b>Possible reasons</b>	<b>Suggested improvements</b>
Low DNA yield	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Not enough Buffer GC</li> <li>2. Agarose gel doesn't melt completely</li> <li>3. Reused electrophoresis buffer with increased pH.</li> <li>4. Fragment &lt; 200 bp</li> <li>5. Fragment &gt; 10 kb</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Determine the volume of Buffer GC to be used correctly as instructed.</li> <li>2. Make sure to set the water bath to 55-60°C to allow gel to melt completely. Add more Buffer GC if necessary.</li> <li>3. Use fresh electrophoresis buffer.</li> <li>4. Add isopropanol as instructed.</li> <li>5. Incubate the column (after adding ddH<sub>2</sub>O or Elution Buffer) at 60°C for 15 min before elution.</li> </ol>
No DNA yield	Forgot to add ethanol to DNA Wash Buffer	Add absolute ethanol to DNA Wash Buffer as instructed before use.
DNA sample floats out of well while loading agarose gel	Ethanol was not completely removed from the column following wash step	After the wash step, centrifuge the empty column with the lid open at top speed for 1-3 min. Repeat once.
Column clogged	Agarose gel doesn't melt completely	Make sure to melt the gel at 55-60°C before loading the sample to DNA column.