

PCR 产物纯化回收试剂盒

货号： NG208S 100 次
NG208M 200 次

试剂盒组成	保存	100 次	200 次
结合液 GMB	室温	100ml	200 ml
漂洗液 PE	室温	50ml	100ml
漂洗液 WB	室温	25 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇	50 ml
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml	15 ml
吸附柱 EC	室温	100 个	200 个
收集管 (2ml)	室温	100 个	200 个

产品简介：

本试剂盒基于硅基质材料与 DNA 结合的特性，采用独特的结合液系统纯化并回收 PCR 产物，同时通过 WB 除去蛋白质、无机盐离子及寡核苷酸引物等杂质，纯化 DNA，回收 100 bp-50 kb DNA 片段，回收率高达 85%以上。使用本试剂盒回收的 DNA 可广泛的用于下游实验，包括酶切、PCR、测序、连接和转化等等实验。

注意事项

1. 所有离心步骤在室温下即可。
2. 如果回收率较低，可在 PCR 产物加入结合液后检测 pH 值，溶胶后溶胶液依旧保持黄色，pH 正常。如 pH 值大于 7.5 溶液变成橘红色或者淡紫色可加 10-30 μ l 3 M 醋酸钠 (pH5.2) 调节 pH 值到 5-7 之间，溶液为黄色。
3. 回收 <100 bp 及 >10 kb 的 DNA 片段时，应加大结合液的体积，延长吸附和洗脱的时间。
4. 回收率与初始 DNA 量和洗脱体积有关，初始量越少、洗脱体积越少，回收率越低。
5. 使用前漂洗液 WB 中按量无水乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
6. 所有的溶液有沉淀时可在 37°C 水浴加热，溶解沉淀。使用前恢复到室温。
7. 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

产品特点

1. 快速：独特的结合液配方，节省时间，实验操作更快速。
2. 简便：实验操作只需漂洗，洗脱等简便步骤。
3. 功能全：可回收 ssDNA、dsDNA、环状 DNA。
4. 高效：独特的离心柱和缓冲液，保证最大效率回收到高纯度的目的 DNA。

DNA 浓度及纯度检测

DNA 片段可以用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 在 OD₂₆₀ 处有吸收峰，OD₂₆₀ 值为 1 相当于大约 50 μ g/ml dsDNA、40 μ g/ml ssDNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7-1.9。如果洗脱时使用 ddH₂O，比值会偏低，但并不表示纯度低。

关于平衡液的使用（可选步骤）

1. 介绍：核酸吸附硅胶膜柱子长期放置过程中会同空气中的电荷/尘埃发生反应而影响其核酸的结合能力。硅胶柱经平衡液预处理后可大大减少柱子中硅胶膜的憎水基团，提高核酸的结合能力。从而提高硅胶柱子回收效率或者产量。平衡液是强碱性溶液，若不小心碰到，请用大量自来水清洗。用完后需盖紧瓶盖，以免接触空气。室温保存。在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至 37°C 使沉淀完全消失。
2. 使用方法：取一个新的硅胶膜吸附柱子装在收集管中，吸取 100 μ l 的平衡液至柱子中。12000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中废液，将吸附柱子重新放回收集管。此时平衡液预处理柱子完毕。接后续的操作步骤。

操作步骤:第一次使用前请在漂洗液 WB 中加入 4 倍体积无水乙醇!

1. PCR 产物直接加入三倍体积结合液。

(注意: 对于回收 <300 bp 的小片段可同时加入 1.5 倍体积的异丙醇以提高回收率。)

(可选步骤) 平衡液预处理吸附柱: 使用平衡液预处理硅胶膜吸附柱, 具体方法参见前文“关于平衡液的使用”

2. 将上一步所得溶液加入一个吸附柱 EC 中, 将吸附柱放入收集管中, 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 30-60 sec, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱 EC 放入收集管中。

注意: 吸附柱容积为 750 μ l, 若样品体积大于 750 μ l 可分批加入。

可选步骤: 加入 500 μ l 漂洗液 PE, 12,000rpm 离心 30-60 秒, 弃废液。

3. 加入 600 μ l 漂洗液 WB (使用前请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000 rpm 离心 1 min, 弃掉废液, 吸附柱放入收集管中。

4. 重复步骤 3。

5. 将吸附柱 EC 放回收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 除尽漂洗液。将吸附柱 EC 置于室温放置数分钟, 彻底地晾干, 防止漂洗液残留影响下一步的实验。

注意: 漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应 (酶切、PCR 等) 实验。

6. 将吸附柱 EC 放到一个干净离心管中, 向吸附膜中间位置悬空滴加 50-80 μ l 洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液可在 65-70 $^{\circ}$ C 预热, 增加洗脱效果), 室温放置 2 min。12,000 rpm 离心 2 min 收集 DNA 溶液。为了提高 DNA 的回收量, 可将离心得到的洗脱液重新加回离心吸附柱洗脱, 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 2 min, 将 DNA 溶液收集到离心管中, -20 $^{\circ}$ C 保存。

注意: 洗脱体积不应少于 30 μ l, 体积过少影响回收效率。洗脱液的 pH 值不应低于 7.0。后续实验用于测序时, 洗脱液可以使用 ddH₂O; DNA 也可以用 10 mM Tris-Cl, pH 8.0 缓冲液洗脱。