



# PCR 产物纯化回收试剂盒

quick Midi Purification Kit

## 产品信息:

试剂盒组成	保存	DH102-01	DH102-02
		100 次	200 次
结合液 BB	室温	60ml	100ml
漂洗液 WB	室温	25ml	25ml×2
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml	10ml×2
吸附柱 EC	室温	100 个	200 个
收集管 (2ml)	室温	100 个	200 个

**保存条件:** 本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

## 产品介绍:

在高离子盐存在的情况下, DNA 片段选择性的吸附于离心柱内的硅基质膜上, 再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤, 去蛋白液和漂洗液将引物、核苷酸、蛋白、酶等杂质去除, 最后低盐、高 pH 值的洗脱缓冲液将纯净 DNA 从硅基质膜上洗脱。

## 产品特点:

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口特制吸附膜, 柱与柱之间吸附量差异极小, 可重复性好。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。
2. 使用了优质结合液, 不含传统结合液的碘化钠和高氯酸盐, 不抑制回收后酶切、连接克隆等下游反应。
3. 结合液调制成为了黄颜色, 便于监测 pH 值变化从而达到最佳结合效果, 大大提高回收效率。
4. 简单快速、使用方便。

## 注意事项:

1. 所有的溶液应该是澄清的, 如果环境温度低时溶液可能形成沉淀, 此时不应该直接使用, 可在 37℃ 水浴加热几分钟, 即可恢复澄清, 使用前应该恢复到室温。
2. 储存于低温 (4℃ 或者 -20℃) 会造成溶液沉淀, 影响使用效果。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。
4. 结合液中含有刺激性化合物, 操作时要戴乳胶手套, **避免沾染皮肤, 眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 要立即用大量清水或者生理盐水冲洗。**
5. 回收纯化的 DNA 片段一般在 100bp 到 40kb 之间, 过长、过短片段的回收效率迅速降低。
6. 回收 DNA 的量和起始 DNA 的量, 洗脱体积, DNA 片段大小有关。一般 1-20μg, 100bp-5kb 的 DNA 片段, 回收率可达 95%。
7. pH 值 ≤ 7.5 时, 吸附膜吸附 DNA 的效率最高。如果待纯化产物含有碱性物质过多, 造成和结合液混和后 pH 偏高, 会导致回收率降低。混和后, 如果结合液依旧保持黄色, 说明 pH 正常; 如果变成橘红色或者淡紫色, 说明 pH 偏高, 可加 5-10μl 3M 醋酸钠 (pH5.2) 将 pH 值调到 5-7 (黄色)。
8. **洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA, 不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱, 但应该确保 pH 大于 7.5pH 过低影响洗脱效率。**用水洗脱, DNA 片段应该保存在 -20℃。DNA 片段如果需要长期保存, 可以用 TE 缓冲液洗脱 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0), 但是 EDTA 可能影响下游酶切反应, 使用时可以适当稀释。

**自备试剂:** 无水乙醇

## 操作步骤:

**提示:** 第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇, 加入后请及时打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入!

1. 每 100μl PCR 扩增后体系或者酶切后体系加入 500μl 结合液 BB, 充分混匀。(如果初始体系小于 100μl, 请事先用双蒸水调整至 100μl)。
2. 将上一步所得溶液加入吸附柱 EC 中 (吸附柱放入收集管中), 室温放置 1min, 12,000rpm 离心 30-60sec, 倒掉收集管中的废液。
3. 加入 500μl 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心 30sec, 弃掉废液。
4. 重复操作步骤 3。

- 5.将吸附柱 EC 放回空收集管中，12,000rpm 离心 2min，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
- 6.取出吸附柱 EC，放入一个干净的离心管中，室温放置数分钟。
- 7.在吸附膜的中间部位滴加洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 65-70℃水浴中加热效果更好），室温放置 2min，12,000rpm 离心 1min。如果需要较多量 DNA，可将得到的溶液重新加入吸附柱中，离心 1min。（注意：洗脱体积越大，洗脱效率越高。如果需要 DNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于 30 $\mu$ l，体积过小降 DNA 洗脱效率，减少产量。）