

## PCR 纯化试剂盒/DNA 纯化试剂盒

### 产品介绍

本试剂盒采用独特的缓冲体系和离心吸附柱，既可从 TAE 或 TBE 琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段，又可用于直接纯化 PCR 产物，能够满足多种实验需要。溶胶液 PC 中含有 pH 指示剂，可根据颜色来判断溶胶状态。使用本产品可回收 100bp~8kb 大小的 DNA 片段，回收率可达 80%。

### 组分和说明

组分	R01055-50T
溶液 PC (Buffer PC)	25mL
平衡液 BL (Buffer BL)	30mL
漂洗液 PW (Buffer PW)	15ml
洗脱缓冲液 EB (Buffer EB)	15ml
吸附柱 CB2 (Spin Columns CB2)	50 个
收集管 (2mL) (Collection tubes 2ml)	50 个

### 产品应用

使用本试剂盒回收的 DNA 可直接用于连接、转化、酶切、测序等分子生物学实验。

### 产品优势

- 1.兼容性强：既可用于 DNA 产物直接纯化，又可用于 DNA 凝胶回收。
- 2.操作简便、可回收胶体量大：可按照胶块与溶胶液等比进行溶胶。
- 3.稳定、可靠：配有指示剂，可直观判断影响 DNA 吸附的 pH 值，又可保证 DNA 与膜充分结合，提高回收效率。

### 使用说明

使用前请先在漂洗液 PW 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

#### 一、从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段

1、柱平衡步骤：向吸附柱 CB2 中（**吸附柱放入收集管中**）加入 500 $\mu$ L 平衡液 BL，12000rpm (~13400 $\times$ g)离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。（**请使用当天处理过的柱子**）

2、将单一的目的 DNA 条带从琼脂糖凝胶中切下（**尽量切除多余部分**）放入干净的离心管中，称取重量。

3、向胶块中加入等倍体积溶液 PC（如果凝胶重为 0.1g，其体积可视为 100 $\mu$ L，则加入 100 $\mu$ L PC 溶液），50 $^{\circ}$ C 水浴放置 10min 左右，其间不断温和地上下翻转离心管，以确保胶块充分溶解。（若胶块的体积过大，可事先将胶块切成碎块）。

**注意：对于回收<150bp 的小片段可将溶液 PC 的体积增加到 3 倍以提高回收率；胶块完全溶解后最好将溶液温度降至室温再上柱，因为吸附柱在室温时结合 DNA 的能力较强。凝胶完全融解后应呈现黄色，即可进行后续操作。如果胶完全融解后溶液的颜色为桔红色或紫色，请使用 10 $\mu$ L 3M 乙酸钠 (pH5.0) 将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。（溶液 PC 中含有 pH 指示剂，当 pH $\leq$ 7.5 时溶液的颜色为黄色，此时 DNA 才能够有效的与膜结合，当 pH 值偏高时溶液的颜色变为桔红色和紫色，需要调整。）**

4、将上一步所得溶液加入一个吸附柱 CB2 中（**吸附柱放入收集管中**），12000rpm (~13400 $\times$ g)离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱 CB2 放入收集管中。

5、向吸附柱 CB2 中加入 600 $\mu$ L 漂洗液 PW（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12000rpm (~13400 $\times$ g)离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱 CB2 放入收集管中。

**注意：如果回收的 DNA 是用于盐敏感的实验，例如平末端连接实验或直接测序，建议 PW 加入后静置 2~5min 再离心。**

6、重复操作步骤 5

7、将吸附柱 CB2 放入收集管中，12000rpm (~13400×g)离心 2min，尽量除去漂洗液。将吸附柱置于室温放置数分钟，彻底晾干。

**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。

8、将吸附柱 CB2 放入一个干净离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加适量的洗脱缓冲液 EB，（如果回收的目的片段>4kb，则洗脱缓冲液 EB 应置于 65~70°C 水浴预热），室温放置 2min。12000rpm (~13400×g)离心 2min，收集 DNA 溶液。

**注意：**洗脱液的体积不应少于 30μL，体积过少会影响回收的效率。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有较大影响。若后续做测序，需使用 ddH<sub>2</sub>O 做洗脱液，并保证其 pH 值在 7.0~8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20°C，以防 DNA 降解。为了提高 DNA 的回收量，可将离心得到的溶液重新加回离心吸附柱中，室温放置 2min，12000rpm (~13400×g)离心 2min，将 DNA 溶液收集到离心管中。

## 二、从 PCR 反应液或酶切反应液中回收 DNA

1、柱平衡步骤：向吸附柱 CB2 中（**吸附柱放入收集管中**）加入 500μL 的平衡液 BL，12000rpm (~13400×g)离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。（**请使用当天处理过的柱子**）

2、估计 PCR 反应液或酶切反应液的体积，向其中加入等倍体积溶液 PC，充分混匀（**无需去除石蜡油或矿物油**）。

**注意：**对于回收<150bp 的小片段可将溶液 PC 的体积增加到 3 倍以提高回收率；溶液混匀后应呈现黄色，即可进行后续操作。如果溶液的颜色为桔红色或紫色，请使用 10μL 3M 乙酸钠（pH5.0）将溶液的颜色调为黄色后再进行后续操作。

3、将上一步所得溶液加入一个吸附柱 CB2 中（**吸附柱放入收集管中**），室温放 2min，12000rpm (~13400×g)离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

**注意：**吸附柱容积为 800μL，若样品体积大于 800μL 可分批加入。

4、向吸附柱 CB2 中加入 600μL 漂洗液 PW（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12000rpm (~13400×g)离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱 CB2 放入收集管中。

**注意：**如果纯化的 DNA 是用于盐敏感的实验，例如平末端连接实验或直接测序，建议 PW 加入后静置 2~5min 再离心。

5、重复操作步骤 4。

6、将吸附柱 CB2 放回收集管中，12000rpm (~13400×g)离心 2min，尽量除去漂洗液。将吸附柱 CB2 置于室温放置数分钟，彻底地晾干。

**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。

7、将吸附柱 CB2 放入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加适量的洗脱缓冲液 EB，（如果回收的目的片段>4kb，则洗脱缓冲液 EB 应置于 65~70°C 水浴预热），室温放置 2min。12000rpm (~13400×g)离心 2min 收集 DNA 溶液。

**注意：**洗脱液的体积不应少于 30μL，体积过少会影响回收的效率。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有较大影响。若后续做测序，需使用 ddH<sub>2</sub>O 做洗脱液，并保证其 pH 值在 7.0~8.5 范围内，且 DNA 产物应保存在 -20°C，以防 DNA 降解。为了提高 DNA 的回收量，可将离心得到的溶液重新加回离心吸附柱中，室温放置 2min，12000rpm (~13400×g)离心 2min，将 DNA 溶液收集到离心管中。

## 保存条件：

室温（15~25°C）干燥，有效期 12 个月。更长时间的保存可置于 2~8°C。2~8°C 保存条件下，若溶液产生沉淀，使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10min，以溶解沉淀。

## 注意事项：

（请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项）

1. 平衡液 BL 的加入能够改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性，消除高温/潮湿或其他不良环境因素对吸附柱造成的影响。使用前请先检查平衡液 BL 是否出现浑浊，如有混浊现象，可在 37°C 水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。

2. 溶液 PC 含有 pH 指示剂，为黄色，指示 pH≤7.5。