



PCR 产物纯化试剂盒

Catalog No. EM2302-01

Size 50T

简介

本试剂盒采用了特异缓冲液体系和硅基质膜材料特异性吸附 DNA 的方法从 PCR 产物中回收 DNA 片段。操作简单方便快捷。回收过程中去除了寡核苷酸引物、dNTP、无机盐和蛋白质等杂质，达到纯化 DNA 的目的。一般长度的 DNA 片段，回收率达 80%以上，小于 200bp 和大于 10kb 以上的片段回收率稍低（40-60%）。可直接用于连接、酶切等分子生物学实验。

试剂盒组成

离心柱及收集管 各 50 支

结合液 BB 50 ml

洗涤液 WB 20ml

洗脱液 EB 15 ml

保存条件及有效期

试剂盒保存在室温干燥环境，有效期为 12 个月。更长保存时间请置于 2-8℃，当低温保存时，使用前应将试剂盒中的溶液放在室温平衡至少 30 分钟。如试剂出现结晶，可以将试剂瓶置于 55℃ 水浴加热，溶液变清亮并降至室温后再使用。

操作步骤

所有离心步骤皆使用台式离心机，为室温下操作。

第一次使用前请先参考试剂瓶上的标签，在洗涤液 WB 中加入无水乙醇。

1. 将 PCR 产物转移到一个新的 1.5ml 离心管中，估计液体总量，加入 3 倍体积的结合液 BB，充分混匀。
2. 将溶液转移到离心柱中，静置 2 分钟，12,000rpm 离心 30 秒。若一次加不完可分两次操作。
3. 倒掉收集管中的滤液，将离心柱重新装在收集管中（收集管中的滤液重新上样可以提高回收率）。
4. 加入 700μl 洗涤液 WB 于离心柱中，12,000rpm 离心 30 秒。
5. 倒掉收集管中的滤液，将离心柱重新装在收集管中。再加入 500μl 洗涤液 WB 于离心柱中 12,000rpm 离心 30 秒，弃滤液。将离心柱重新装在收集管中，12,000rpm 离心 1-2 分钟，充分离心去掉洗涤液。
6. 将离心柱重新装在收集管中，置于室温或 37℃ 烘干箱中数分钟，充分晾干以除掉洗涤液中的乙醇。
9. 将晾干后的离心柱装在一个高压灭菌处理过的 1.5ml 离心管中，向离心柱膜中间位置悬空加入 20-50μl 洗脱液 EB 或去离子水，室温静置 2 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟，洗脱 DNA。
10. 洗脱得到的 DNA 经琼脂糖凝胶电泳检测，或分光光度计定量后，便可以用于后续实验。当时不用请冻存于 -20℃ 备用。

注意事项

1. 本试剂盒用于回收溶液中所有大于 70bp 以上的 DNA 片段，无选择性，不能除掉 PCR 反应时产生的非特异性扩增条带。回收效率与初始 PCR 扩增的 DNA 量和洗脱体积有关。
2. 结合液 BB 液体颜色为橙黄色。当加入 PCR 反应液，混合液变红时，请添加 10-20μl 3M 乙酸钠 pH5.0，调整混合液 pH 值保证液体颜色为橙黄色。提高膜的吸附能力。
3. 洗脱液 ES 可以先放在 60℃ 水浴中保温，稍高温度的洗脱液可以提高洗脱效率。去离子水的 pH 应保证在 7-9 之间。