

DNA 产物纯化试剂盒

项目号: D665967

储存条件: 室温。

产品内容:

Component	D665967	D665967
	50preps	200preps
BufferPB	30ml	120ml
BufferPS	15ml	60ml
BufferPW (concentrate)	6ml	25ml
BufferEB	10ml	30ml
SpinColumnsDM withCollectionTubes	50	200

产品简介:

本试剂盒采用新型硅基质膜技术和试剂配方,通过快速简单的结合-洗涤-洗脱三步即可从 PCR 产物或酶反应液(酶切,连接,探针标记等)中纯化回收 100bp-10kb 的 DNA 片段,每个吸附柱最高可吸附 10 μ g 的 DNA,同时最大限度的去除引物、寡核苷酸、酶等杂质。纯化回收的 DNA 纯度及浓度高,完整性好,回收率高,可直接用于测序、连接和转化、标记、体外转录等分子生物学实验。

自备试剂: 无水乙醇。

实验前准备及重要注意事项:

1. 所有组分可在干燥、室温(15-30℃)环境稳定保存 1 年,更长时间保存可置于 2-8℃。当溶液低温保存时,使用前需在室温中放置一段时间,恢复至室温后使用。
2. 本试剂盒可无选择性回收溶液中所有 DNA 片段,如需选择性回收特定片段,同时去除其他不同大小片段,请选择我公司的胶回收试剂盒。
3. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在 BufferPW 中加入无水乙醇。
4. 使用前请检查 BufferPB 是否出现结晶或者沉淀,如有结晶或者沉淀现象,可在 37℃ 水浴几分钟,即可恢复澄清。
5. 回收效率与初始 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。
6. 所有离心步骤均可室温下进行。

操作步骤:

1. 估计 DNA 反应液的体积,加入 5 倍体积的 BufferPB,充分混匀(无需去除石蜡油或矿物油)。

注意：1) 如 DNA 反应体系为 50 μ l (不包括石蜡油体积)，则加入 250 μ l BufferPB。

2) 在加入 BufferPB 后检测溶液的 pH 值，若 pH 值 > 7.5，可向其中加入 10–30 μ l 的 3M 醋酸钠 (pH5.0)，从而将 pH 值调到 5–7。

2. 柱平衡：向已装入收集管中的吸附柱 (SpinColumnsDM) 中加入 200 μ l BufferPS，13,000rpm (~16,200 $\times$ g) 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

3. 将步骤 1 中所得溶液加入到已装入收集管的吸附柱中，室温放置 1 分钟，13,000rpm 离心 30–60s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

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。

4. 向吸附柱中加入 500 μ l BufferPW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇) 13,000rpm 离心 30–60s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。

注意：如果纯化的 DNA 用于盐敏感实验 (例如平末端连接实验或直接测序)，建议加入 BufferPW 后静置 2–5 分钟再离心。

5. 13,000rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应 (酶切、PCR 等)。为确保下游实验不受残留乙醇的影响，建议将吸附柱开盖，置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的乙醇。

6. 将吸附柱放到一个新离心管 (自备) 中，向吸附膜中间位置悬空滴加 30–50 μ l BufferEB，室温放置 1 分钟。13,000rpm 离心 1 分钟，收集 DNA 溶液。–20 $^{\circ}$ C 保存 DNA。

注意：1) 洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液，应保证其 pH 值在 7.0–8.5 之间 (可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围)。

2) 为了提高 DNA 的回收量，可将离心得到的溶液重新加到吸附柱中，室温放置 2 分钟，13,000rpm 离心 1 分钟。

3) 洗脱体积不应小于 30 μ l，体积过少会影响回收效率。

4) 回收 >10kb 的 DNA 片段时，BufferEB 应在 50 $^{\circ}$ C 水浴中预热，适当延长吸附和洗脱时间，可增加回收效率。