

AipBest PCR 产物 DNA 纯化回收试剂盒(离心柱型)

AipBest PCR Product DNA Purification Kit(Centrifugal Column)

使用说明书

◆目录号：DR202

◆试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	100 次 (DR202-02)	200 次 (DR202-03)
平衡液	室温	10mL	20mL
结合液 BB	室温	60mL	100mL
漂洗液 WB	室温	25mL	50mL
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
洗脱缓冲液 EB	室温	15mL	20mL
吸附柱 EC 和 收集管(2mL)	室温	100 套	200 套

◆适用范围：适用于PCR反应产物、酶切产物DNA片段、探针标记纯化回收，DNA样品浓缩等。

◆产品储存：本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

◆储存事项：

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°C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°C或者-20°C)会造成溶液沉淀，影响使用效果，因此运输和储存均在室温下(15°C-25°C)进行。
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。

◆产品介绍 在高离序盐存在的情况下，DNA 片断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世界著名公司特制吸附膜,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. 结合液加酚红调制成为了黄颜色,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. 快速便捷,不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂,也不需要乙醇沉淀。

◆注意事项:

1. 所有的离心步骤均在室温完成,使用转速可以达到 13,000rpm 的传统台式离心机,如 Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
2. 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。
3. 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。
4. 回收 DNA 的量和起始 DNA 的量,洗脱体积, DNA 片断大小有关。一般 1-15 μ g, 100bp-5kb 的 DNA 片段,回收率可高达 95%。
5. 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 7.5, pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱, DNA 片段应该保存在 -20 $^{\circ}$ C。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。

◆关于平衡液的使用:

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 $^{\circ}$ 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。13000rpm 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:

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 100 μ L PCR 扩增后体系或者酶切后体系加入 500 μ L 结合液 BB，充分混匀。(如最初体系小于 100 μ L，请事先用双蒸水调整至 100 μ L)。

平衡液预处理吸附柱：使用平衡液预处理硅胶膜吸附柱为必做步骤，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吸附柱 EC 中(吸附柱放入收集管中)，室温放置 1 分钟，12,000rpm 离心 30-60 秒，倒掉收集管中的废液。

注：过滤下的结合液和收集管内残存的强碱性平衡液结合后，溶胶液可能会从黄色变成橘红甚至紫色，此为酚红 PH 指示剂碱性条件下的正常颜色变化。

3. 加入 600 μ L 漂洗液 WB(请先检查是否已加入无水乙醇!)，12,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
4. 加入 600 μ L 漂洗液 WB，12,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
5. 将吸附柱 EC 放回空收集管中，12,000rpm 离心 2 分钟，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，在吸附膜的中间部位加 50 μ L 洗脱缓冲液 EB(洗脱缓冲液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中加热效果更好)，室温放置 2 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。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 1 分钟。

注：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 25 μ L，体积过小降 DNA 洗脱效率，减少产量。

=====

