



DNA 产物快速纯化试剂盒

说明书

【产品简介】

本试剂盒采用一种特殊的结合液，并整合特制的高选择性和特异性的 DNA 纯化柱，能快速高效得纯化 PCR 产物及其他 DNA 分子。该试剂盒被设计用于纯化 >75bp 的 PCR 片段以及其它酶反应产物，纯化后得率可达 70%，每个纯化柱能纯化大约 8 μg 的 DNA，同时还能去除多余的引物及引物二聚体 (<50nt)，酶和荧光标记或未标记的寡核苷酸分子。纯化后的 PCR 产物能用于多种后续实验，如测序，连接，限制性酶切，体外转录和显微注射等。

【试剂盒组成】

试剂盒组成	LN-0103A(50 次)	LN-0103B(100 次)
结合液 PB	30ml	60ml
漂洗液 WB	12 ml	24 ml
洗脱液 EB	1x2ml	2x2ml
离心纯化柱	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

【试剂运输及储存条件】

试剂运输可在常温下进行。储存时可存于室温 (15-25℃)，所有试剂如果适当保存，可以稳定保存12个月。

【操作步骤】

1. 计算反应完毕的PCR产物总体积，加入等体积的沉淀结合液PB，漩涡震荡混匀。

注意：

- 1) 小柱的单次最大容量为：0.5ml PCR 反应液加0.5ml 膜结合液（共1ml）。如果PCR 反应液 > 350ul，请多次上柱直至所有样品通过同一个柱子。
 - 2) 每支小柱最多可结合约40ug DNA，曾成功纯化过低至10ng 的DNA。
 - 3) 石蜡油不会影响DNA 纯化。
 - 4) 如果扩增反应产生非特异条带，或有明显可见的引物二聚体，建议从凝胶块中回收纯化目的DNA。或者用80%乙醇替代试剂盒提供的膜清洗液（WB），以减少纯化产物中的引物二聚体。
2. 将该混合液加到吸附柱上（一次最多700μl），10000rpm室温离心1分钟，弃尽流穿液。
 3. 如混合液体积较多可重复第二步，直到将混合液全部加到吸附柱上。
 4. 往吸附柱中加入500μl漂洗液，10000rpm室温离心1分钟，弃尽流穿液。
 5. 重复步骤4。
 6. 将空柱甩干，10000rpm室温离心1分钟，弃去收集管，将吸附柱套在另一新的1.5ml离心管上。
 7. 往膜中央悬空滴加50μl洗脱液EB，室温放置1分钟。
 8. 10000rpm室温离心1分钟收集纯化产物。

【DNA浓度及纯度检测】

回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在 OD260 处有显著吸收峰，OD260 值为 1 相当于大约 50 μg/ml 双链 DNA、40 μg/ml 单链 DNA。OD260/OD280 比值应为 1.7~1.9，注意：如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

【注意事项】



- 1.收到本试剂盒后, 请立即检查试剂瓶的包装与密封是否完好。若有破损请在收货后24小时内与本公司联系。
- 2.DNA也可以用缓冲液(10 mM Tris-Cl, pH8.0) 洗脱。为了提高DNA的回收量, 可将离心得到的溶液重新加回纯化柱中, 重复步骤8。洗脱液的体积不应少于30 μ l, 体积过少会影响回收的效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内(可以用NaOH将水的pH值调到此范围), pH值低于7.0会降低洗脱效率。
- 3.DNA产物应保存在-20 $^{\circ}$ C, 以防DNA降解。

【常见问题及对策】

1. DNA浓度及纯度检测

回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA应在OD260处有显著吸收峰, OD260值的一个单位相当于大约50 μ g/ml双链DNA。纯的DNA的OD260/OD280比值应为1.7-1.9, 如果洗脱时不使用洗脱缓冲液, 而使用去离子水, 比值会偏低, 因为PH值和离子存在会影响光吸收值, 但并不表示纯度低。

2. 回收率较低

可在洗脱前, 将洗脱液于30-60 $^{\circ}$ C温浴, 可提高回收效率。

【有效期】

本试剂盒有效期为12个月, 请在有效期内使用。

注: 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。