



PCR Purification Kit

Cat.No.DE-03011/03012/03013

For purification of PCR products:60bp-10kb

For research use only

Store at room temperature



目 录

产品介绍	3
产品特点	3
试剂盒应用	3
回收 DNA 片段的应用	3
产品质量控制	3
试剂盒内容	4
产品信息	4
储存条件	4
试剂盒组分信息	5
DNA-Only Column 特性	5
DNA 回收率	5
注意事项	6
操作前准备事项	7
实验材料和设备	7
自备试剂	7
安全性	7
操作指南	8
● 材料取用说明	8
● 操作步骤	8
DNA 浓度及纯度测定	9
操作示意图	10
问题分析指南	11

产品介绍

该试剂盒采用本公司研制的离心柱和配方，可以从 PCR 体系中高效率的回收高纯度 DNA 片段。该纯化柱能高效的结合 DNA，搭配独特的配方试剂使得不经过胶回收便可直接去除引物二聚体。

试剂盒回收 DNA 片段范围广，一般条件下可以回收短至 60bp 的 DNA 片段。最小可以使用 30 μ l 洗脱液，提高回收 DNA 浓度。

试剂盒操作便捷，步骤少，只需数次离心即可同时处理多个样品，15 分钟即可获得高纯回收 DNA 片段。

产品特点

- ◆ DNA 回收范围广：可以回收短至 60bp，大到 10kb 的 DNA 片段。
- ◆ 回收效率高：回收效率一般在 80%以上，最高可达 95%以上。
- ◆ 速度快：操作简便，可在 15 分钟内完成 DNA 片段回收且不需胶回收便可直接去除引物二聚体。
- ◆ 安全：无需有机试剂抽提。
- ◆ 质量高：回收得到的 DNA 片段纯度高，能够满足后续各种实验。

试剂盒应用

该试剂盒适用于回收 PCR 产物中 DNA 片段(60bp-10kb)。

回收 DNA 片段的应用

胶回收试剂盒回收获得的 DNA 片段纯度高，可用于常规分子生物学操作，如：酶切、连接、PCR、测序等实验。

产品质量控制

按照福际生物试剂盒质量检测体系标准(FOREGENE's Total Quality Management System)，每一批次的 PCR 产物纯化试剂盒都严格进行多次测试，确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

试剂盒内容

PCR Purification Kit PCR 产物纯化试剂盒			
试剂盒组成	DE-03011	DE-03012	DE-03013
	50 次	100 次	250 次
Buffer BD*	18ml	36ml	90ml
Buffer BD-S	10ml	20ml	50ml
Buffer WB1	15ml	30ml	75ml
Buffer EB	10ml	20ml	50ml
DNA-Only Column	50 套	100 套	250 套
说明书	1 份	1 份	1 份

*: Buffer BD中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	~15min(24 个样品)
离心机	台式离心机	纯化柱 DNA 承载量	80µg
离心柱液体盛装量	800µl	最小洗脱体积	30µl
PCR 体系	50µl/Prep	回收效率*	80-95%

*: DNA片段的回收效率与片段大小、PCR产物初始量、洗脱体系等因素相关。因此，实际操作中，回收效率可能比80-95%略低。

储存条件

本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下，可保存 12 个月；如需保存更长时间可置于 2–8°C。

注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

试剂盒组分信息

- ◆ Buffer BD: 调节 PCR 产物体系, 使 DNA 片段能更好的结合到硅胶膜上。
- ◆ Buffer BD-S: 补充调节 PCR 产物体系, 使大片段的 DNA 更好的结合到硅胶膜上。
- ◆ Buffer WB1: 去除 DNA 中的残留的盐离子。
- ◆ Buffer EB: 洗脱纯化柱膜上的 DNA。
- ◆ DNA-Only Column: 特异吸附 PCR 体系中的 DNA 片段。

DNA-Only Column 特性

DNA最大结合能力(Maximum binding capacity)	80µg
上清最大载量体积(Maximum loading volume)	800µl
最小洗脱体积(Minimum elution volume) *	30µl
最佳样本选取(Selection of samples)	PCR产物
样本最大初始量(Maximum amount of starting material) *	50µl

*: 30µl 的最小洗脱体系是在兼顾 DNA 回收率及浓度给出的比较合理的建议体积。如果为了提高 DNA 的产量, 可以适当增加洗脱液体积; 如果为了提高纯化得到的 DNA 浓度, 在牺牲一部分 DNA 得率的前提下, 适当的减少洗脱液体积, 比如采用 15µl 的洗脱体系, 以期得到更高浓度的 DNA。

DNA 回收率

鉴于纯化柱的特性, 对于不同片段的 DNA 其吸附能力以及洗脱效率也不一样, 因此 DNA 回收的效率会有所不同, <10kb 的 DNA 片段回收效率可以达到 80%以上; >10kb 的 DNA 片段, 回收效率相对低下, 请以实际操作为准。

注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ◆ PCR 结束后，请尽快进行 PCR 产物纯化，放置时间越长，DNA 降解越严重。
- ◆ 试剂盒使用前，请务必检查 Buffer BD 中是否按照试剂瓶标签加了异丙醇。Buffer BD 在使用前分别添加 6ml 异丙醇(DE-03011)、12ml 异丙醇(DE-03012)、30ml 异丙醇(DE-03013)。
- ◆ 试剂盒使用前，请务必检查 Buffer WB1 中是否按照试剂瓶标签加入了无水乙醇。Buffer WB1 在使用前分别添加 60ml 无水乙醇(DE-03011)、120ml 无水乙醇(DE-03012)、300ml 无水乙醇(DE-03013)。
- ◆ 本试剂盒适用于无选择性的回收溶液中所有的 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，请选择胶回收试剂盒。
- ◆ 回收率与初始 DNA 量和洗脱体积有关，初始量越少、洗脱体积越小，回收率越低。
- ◆ 洗脱体积：Buffer EB 不应少于 30 μ l，否则会影响 DNA 回收效率。
- ◆ 所有离心步骤均为使用台式离心机常温(15-25 $^{\circ}$ C)离心。
- ◆ 所有实验步骤均在常温(15-25 $^{\circ}$ C)进行。

操作前准备事项

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读说明书。PCR 产物纯化试剂盒操作简单、方便、快速，说明书提供了整个试剂盒的正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

实验材料和设备

- ◆ 含有特异扩增 DNA 片段的 PCR 体系。
- ◆ 1.5ml 或 2ml 无核酸酶离心管。
- ◆ 台式离心机($\geq 13,400\times g$)、移液器等。

自备试剂

- ◆ 无水乙醇
- ◆ 异丙醇

安全性

- ◆ 本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床医疗、食品及化妆品等用途。
- ◆ 使用化学品时，穿戴合适的实验服，手套，防护眼镜等。
- ◆ Buffer BD 含有离液盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer WB1 含无水乙醇：易燃。

操作指南

请严格按照说明书进行 PCR 产物纯化相关操作。

材料取用说明

- ◆ PCR 结束后，请尽快进行 PCR 产物纯化操作，否则 DNA 片段容易降解，导致纯化到的 DNA 量减少。
- ◆ 如果 PCR 结束后，不立即进行 PCR 产物纯化，请将其 PCR 产物置于-20°C 保存，使用时，置于常温溶化后再进行相关操作。

操作步骤 **(请严格按照本操作说明进行相关实验操作)**

使用前请先在 Buffer BD 中加入异丙醇，加入体积请参照瓶上标签；在 Buffer WB1 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 估计 PCR 反应液的体积，根据 PCR 产物片段大小按下面情况加入相应体积的 Buffer BD(已加入相应体积异丙醇)，充分混匀(无需去除石蜡油或矿物油)。
 - a 回收 DNA 片段<2kb，加入 **4 倍**于 PCR 产物体积的 Buffer BD，充分混匀。
 - b 回收 DNA 片段在 2kb-10kb 之间，加入 **4 倍**于 PCR 产物体积的 Buffer BD，和 **1 倍**体积的 Buffer BD-S，充分混匀。
 - c 回收 DNA 片段>10kb，加入 **4 倍**于 PCR 产物体积的 Buffer BD，和 **2 倍**体积的 Buffer BD-S，充分混匀。

实例：如 PCR 反应体系为 50 μ l(不包括石蜡油体积)：若回收片段<2kb，则加入 200 μ l Buffer BD(已加入异丙醇)，充分混匀；若回收片段在 2kb-10kb 之间，则加入 200 μ l Buffer BD(已加入异丙醇)，再向体系中加入 50 μ l Buffer BD-S，充分混匀；若回收片段>10kbp，则加入 200 μ l Buffer BD(已加入异丙醇)，再向体系中加入 100 μ l Buffer BD-S，充分混匀。

2. 将上一步所得溶液转移至离心柱中(DNA-Only Column)，12,000rpm (~13,400 \times g) 离心 1min。弃掉收集管中的废液。

注意：离心柱容积为 800 μ l，若样品体积大于 800 μ l 可分批加入。

3. 向离心柱中加入 **700 μ l** Buffer WB1，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 1min，弃掉收

集管中的废液。

4. 重复步骤 3 一次。
5. 将离心柱放回收集管中，12,000 rpm (~13,400×g)空管离心 2min，弃掉离心柱中残余的 Buffer WB1。

注意：Buffer WB1 中乙醇的残留会影响后续的酶反应(酶切、PCR 等)实验。

6. 将离心柱移至新的 1.5ml 离心管中，向硅胶膜中间位置滴加 **30-50μl** Buffer EB，于室温放置 2min(切勿将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，12,000rpm (~13,400 ×g)离心 1min 收集 DNA 溶液。若回收片段>10kb，则在使用前将 Buffer EB 置于 65°C 预热，向硅胶膜中滴加 **30-50μl** Buffer EB，室温放置 5min，12,000rpm (~13,400×g)离心 1min 收集 DNA 溶液。

注意：为了提高 DNA 的回收效率，可将离心得到的溶液重新加回离心柱中，重复步骤 6，回收片段>10kb 时，重复步骤 6 可明显提高回收效率。洗脱体积不应小于 30μl，体积过少影响回收效率；洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。

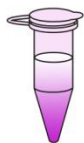
DNA 浓度及纯度检测

- ◆ 得到的基因组 DNA 的质量与操作过程中的多种因素有关。DNA 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 的 OD260 值为 1 相当于大约 50μg/ml 双链 DNA。
- ◆ DNA 的 OD260/280≈1.7-1.9。如果洗脱时不使用洗脱缓冲液 Buffer EB，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。

操作示意图

PCR Products

DNA Fragments



上柱体系

≤2kb : 4V Buffer BD (已添加异丙醇)

2-10kb : 4V Buffer BD (已添加异丙醇) + 1V Buffer BD-S

>10kb : 4V Buffer BD (已添加异丙醇) + 2V Buffer BD-S

注：V指PCR体系体积



吸附：上柱吸附DNA片段 (13,400×g ; 1min)



洗涤：700μl Buffer WB1 两次 (13,400×g ; 1min)

脱盐



离心：空管离心 (13,400 ×g ; 2min)

去残留乙醇

洗脱：30-50μl Buffer EB or ddH₂O (13,400×g ; 1min)

问题分析指南

以下针对 PCR 产物纯化中可能遇到的问题进行分析，希望能对您的实验有所帮助。另外，对于在操作说明和问题分析以外的其他实验或技术上的问题，我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们：028-83360257 或 E-mail:

Tech@foregene.com。

回收不到 DNA 片段或回收效率低

通常会有多种因素影响 PCR 产物回收效率，比如：PCR 体系本身 DNA 含量、洗脱体积等。

1. PCR 体系中没有目的条带。

建议：确认用于回收的 PCR 体系中有特异的目的条带(如果不能确定 PCR 体系中是否含有目的条带，可以取少量 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳分析)。

2. Buffer BD 加入比例不合适或没有加异丙醇。

建议：参照试剂瓶上的标签所示的体积加入相应的异丙醇，且操作过程中按照操作说明在 PCR 产物体系中添加正确体积比例的 Buffer BD，并充分混匀。

3. DNA 片段 $\geq 2\text{kb}$ 时回收率较低。

建议：按照操作说明书中步骤，在 PCR 产物体系中添加正确体积的 Buffer BD-S。

4. Buffer WB1 中忘记添加无水乙醇。

建议：参照说明书或试剂瓶上标签在 Buffer WB1 中添加正确体积的无水乙醇并混匀。

5. 洗脱液添加不正确。

建议：确认 Buffer EB 或 ddH₂O 滴加到了纯化柱膜中间位置；尤其是进行小体积洗脱的时候，一定要确定洗脱液滴加的位置正确，否则会导致无法回收 DNA。

6. 洗脱液使用不正确。

建议：有些特殊需求的实验需要使用纯水洗脱，请确定洗脱液的 pH 在 7.0-8.5 之间，否则将很大程度上影响洗脱效率。

回收的 DNA 影响下游实验

1. 洗脱下来的 DNA 片段中盐离子浓度过高。

建议：结合 DNA 片段的纯化柱在加入 700 μ l Buffer WB1 后，在室温放置 5min 再离心，以便能彻底的去除盐离子。

2. 洗脱下来的 DNA 片段中含有乙醇残留。

建议：Buffer WB1 洗涤纯化柱后，12,000rpm (\sim 13,400 \times g) 空管离心 2min 一定不能省略；如果还有乙醇残留可以将纯化柱在室温放置 2-5min 再进行洗脱或者以 13,400rpm (\sim 17,000 \times g) 离心 2min。

中国 ● 福际 World's Foregene

成都福际生物技术有限公司
电话: 028-83360257, 028-83361257
E-mail: info@foregene.com
[Http://www.foregene.com](http://www.foregene.com)

