

## PCR产物纯化回收试剂盒

KD502 100次

### 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	100 次
平衡液	室温	10ml
结合液 BB	室温	60ml
漂洗液 WB	室温	25ml 第一次使用前按说明加入指定量的乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml
吸附柱 EC 和收集管 (2ml)	室温	100 个

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, 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)。
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公司特制吸附膜, 柱与柱之间吸附量差异极小, 可重复性好。

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、方便，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。
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 $\mu$ 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 $\mu$ l 的平衡液至柱子中。13000 rpm 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：（实验前请先阅读注意事项）

- ⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，充分混匀
1. 每 100 $\mu$ l PCR 扩增后体系或者酶切后体系加入 500 $\mu$ l 结合液 BB，充分混匀。（如果初始体系小于 100  $\mu$ l，请事先用双蒸水调整至 100 $\mu$ l）。
  2. 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”
  3. 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。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。
  4. 加入 600 $\mu$ 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。
  5. 加入 600 $\mu$ l 漂洗液 WB，12,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
  6. 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。
  7. 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 $\mu$ 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。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 $\mu$ l，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少产量。