

PCR Pure Mini Kit

PCR 反应液小量回收试剂盒

本产品适合于从酶促反应液中回收不同大小的 DNA 片段。试剂盒采用硅胶柱纯化技术，可快速纯化得到高纯的 DNA。纯化的 DNA 可直接用于自动测序，连接，酶切，PCR，标记等下游应用。此外本产品也适合于从粗提的 DNA 中回收纯化 DNA。

产品组份

产品编号	DP202-01B (10T)	DP202-02B (100T)	DP202-03B (250T)
DNA Extraction Mini Columns I	10	100	250
2ml Collection Tubes	10	100	250
Buffer HP	6 ml	60 ml	150 ml
Buffer W2A	5 ml	24 ml	2 x30 ml
Buffer EB	3 ml	10 ml	60 ml

保存条件

本产品除可在室温(15~25℃)保存 12 个月。

准备事项

- 水浴锅
- Buffer W2A 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

实验步骤

1. 短暂离心，转移酶促反应液至新的 1.5ml 离心管中，用移液枪测量体积。
2. 加入 3 倍体积 Buffer HP 至样品中。充分涡旋混匀 15s，室温放置 3 分钟。
3. 短暂离心收集管壁上的液滴。将 DNA Extraction Micro Columns 套在 2ml collection Tube 中。转移所有反应液至柱子， $13000 \times g$ 离心 10 秒。
4. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 500 μ l Buffer W2A 至柱子中。 $13,000 \times g$ 离心 10 秒。
5. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 500 μ l Buffer W2A 至柱子中。 $13,000 \times g$ 离心 10 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。 $13,000 \times g$ 离心 2 分钟。
若下游反应加入 DNA 产物量较多时，打开柱子盖子， 55°C 干燥 5 分钟。
7. 把柱子套在 1.5ml 离心管中，加入 20~50 μ l 预热至 65 度的 Buffer EB 至柱子膜中央。放置 2 分钟。 $12,000 \times g$ 离心 1 分钟。丢去柱子，把 DNA 保存于 -20°C 。
回收较大片段时，进行二次洗脱以提高产量。

实验步骤（从粗制样品中回收 DNA）

1. 取 100ul 粗制样品，加入 300ul Buffer HP，颠倒或涡旋混匀 15s，室温放置 3 分钟。
2. 将柱子套在收集管中。把混合液转移至柱子中。13,000 × g 离心 10 秒。
3. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 500μl Buffer W2A 至柱子中。13,000 × g 离心 10 秒。
4. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 500μl Buffer W2A 至柱子中。13,000 × g 离心 10 秒。
5. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。13,000 x g 离心 2 分钟。
若下游反应加入 DNA 产物量较多时，打开柱子盖子，55℃干燥 5 分钟。
6. 把柱子套在 1.5ml 离心管中，加入 20~50μl Buffer EB 至柱子膜中央。放置 2 分钟。12,000 × g 离心 1 分钟。丢去柱子，把 DNA 保存于-20℃。回收较大片段时，进行二次洗脱以提高产量。

常见问题

1. 柱子堵塞

- **样品用量太多：**反应液用量过高，提高裂解液用量。
- **样品消化不充分：**提高裂解液 HP 用量。

2. DNA 产量低

- 参考柱子堵塞部分。
- **样品消化不充分：**延长消化时间让样品充分消化。
- Buffer W2A 没有加入乙醇稀释。
- **洗脱不充分：**洗脱液需加到膜中央，增加洗脱体积或次数。