

PCR 产物纯化试剂盒（离心柱型）

GK2051 50 次

GK2052 100 次

一、试剂盒组成

Components	GK2051 (50 次)	GK2052 (100 次)
DNA Recovery Column	50 个	100 个
2-ml Collection Tube	50 个	100 个
Binding Solution	25ml	50 ml
Wash Solution ⁽¹⁾	12ml	24 ml
Elution Buffer ⁽²⁾	10ml	20ml
Protocol	1 copy	1 copy

二. 产品特点

1. 应用范围广：去除 PCR 反应体系以及各种反应体系(如酶切体系,连接体系等)中的 dNTPs，多余的引物，缓冲体系和酶等，也可用作 DNA 的浓缩和纯化。
2. 快速简便、节省时间：无需酚-氯仿抽提，不含乙醇沉淀步骤，整个纯化过程约需 15min。

三. 注意事项

1. 如果 PCR 反应体系含有非常多的非特异性条带，建议使用 Gel Recovery Column 柱式胶回收试剂盒 (GK2041/2042)。
2. 该试剂盒不能去除 PCR 反应体系中的双链 DNA 模板以及长度大于 50bp 的单链引物。

四. 实验准备

1. 首次使用前，必须在 Wash Solution 瓶中加入 4 倍体积的无水乙醇，充分混匀后使用。每次使用后将瓶盖盖紧，以保持 Wash Solution 中的乙醇含量。如果发现 Wash Solution 由于运输或保管不当造成体积严重不准，请用量筒定容后再加入 4 倍体积的无水乙醇。
2. Elution Buffer 为 2.5mM Tris-HCl (pH8.5)。TE (pH8.0) 或者去离子水 (pH>7.0) 均可以使用，但是 DNA 的洗脱效率通常要低 20%左右。

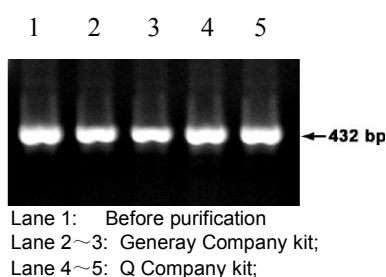
五. 操作步骤

1. PCR 反应结束后，从 PCR 反应管中将反应液移至干净的 1.5ml 离心管中，加入 5 倍体积的 Binding Solution，上下颠倒混匀。

注意：一般情况下采用 50-100ul 的 PCR 反应液进行 PCR 产物纯化，如果欲纯化的 PCR 反应液体积不足 50ul，请加入灭菌的双蒸水补足到 50ul。如果 PCR 反应中使用了石蜡油，在 PCR 产物纯化之前需将石蜡油仔细去掉。如果不去掉石蜡油，也同样可以进行产物纯化，但会影响产物纯化的得率。

3. 将混合液转移到套放收集管的 DNA Recovery Column 柱中，室温放置 2min，于 8000rpm 离心 1min。
4. 取下 DNA Recovery Column，倒掉收集管中废液。

- 5 将 DNA Recovery Column 柱重新放回收集管中，加入 500 μ l Wash Solution，于 12000rpm 离心 1min，倒掉收集管中废液。
6. 重复步骤 4 一次。
7. 将 DNA Recovery Column 柱重新放回收集管中，12,000 rpm 离心 1min，以彻底去除 Wash Solution。
注意：将 DNA Recovery Column 室温开盖放置 10min 或 50 $^{\circ}$ C 放置 5min，将有助于 Wash Solution 中的乙醇完全挥发干净。
8. 将 GenClean 柱放入干净的 1.5ml 离心管中，在 DNA Recovery Column 柱吸附膜的中央小心加入 30~50 μ l Elution Buffer，37 $^{\circ}$ C 放置 2min。12,000rpm 离心 1min，离心管中的液体即为纯化好的 DNA 片段。
注意：将 Elution Buffer 或去离子水加热至 65 $^{\circ}$ C 将提高洗脱效率。
9. 取 2~5 μ l 进行电泳检测浓度，纯化好的 DNA 可立即用于后续实验或于 -20 $^{\circ}$ C 冻存。



六. 常见问题

问题	可能原因	解决方案
PCR 产物回收效率低	结合缓冲液用量不足	加入相当于 PCR 体系的 5 倍体积结合缓冲液，并充分混匀。
	洗涤缓冲液不含乙醇	洗涤缓冲液使用前请加入 4 倍体积的无水乙醇，并做好相应已加无水乙醇的标记。
	结合缓冲液呈碱性	如果结合缓冲液呈碱性会变为粉红色，请加入 5 μ l 3M NaAc (pH 5.2) 并混匀，使溶液颜色恢复到高效工作的浅橙黄色。
	使用了其他洗脱缓冲液	试剂盒推荐的洗脱液为 2.5 mM Tris-HCl (pH 8.5)。TE (pH 8.0) 溶液或双蒸水 (pH>7) 也可以用于洗脱，但是得率会相应降低。
纯化后存在小片段核酸	PCR 引物一起被回收	该试剂盒长于 50bp 的片段可能无法完全去除，普通引物形成的二聚体也可能无法完全去除。

七. 储存

室温，保质期 1.5 年。

Product Use Limitation: This product is developed, designed and sold exclusively for research purpose and in vitro use only.