

HiPure PCR Pure Kits

PCR 产物回收 DNA 试剂盒

产品组份

HiPure PCR Pure Micro Kit

产品编号	D2120-01	D2120-02	D2120-03
Package	20 Preps	100 Preps	250 Preps
Buffer DP	15 ml	60 ml	180 ml
Buffer DW2*	6 ml	20 ml	50 ml
Elution Buffer	1.8 ml	10 ml	30 ml
HiPure DNA Micro Colum	20	100	250
2 ml Collection Tube	20	100	250

HiPure PCR Pure Mini Kit

产品编号	D2121-01	D2121-02	D2121-03
Package	20 Preps	100 Preps	250 Preps
Buffer DP	15 ml	60 ml	180 ml
Buffer DW2*	6 ml	20 ml	50 ml
Elution Buffer	1.8 ml	10 ml	30 ml
HiPure DNA Mini Column I	20	100	250
2 ml Collection Tube	20	100	250

保存条件

本产品室温下可以保存 18 个月。HiPure DNA Micro Column(D2120)可结合 4 μ g 的 DNA; HiPure DNA Mini Column I(D2121)可结合 10 μ g 的 DNA。

产品简介

本产品为 PCR 产物，酶促反应液的 DNA 片段回收纯化提供一条快速的解决方案。试剂盒采用硅胶柱纯化技术，适合于从 PCR 产物、限制性内切酶切体系、或其它酶促反应液中回收 50bp-20Kbp DNA 片段。纯化的 DNA 可直接用于自动测序，连接，酶切，PCR，标记等。HiPure PCR Pure Micro Kit 采用微量柱，适合于处理少量的 PCR 产物或酶促反应液，柱子的洗脱体积为 7~10 μ l，可最大程度提高产物的浓度。HiPure PCR Pure Mini Kit 采用常规的小量柱，适合于处理各种 PCR 产物或酶促反应液。

准备事项

- 在 Buffer DW2 中，加入 4 倍体积的无水乙醇，并于室温保存。
- 小型高速离心机 (~10,000 \times g)
- 1.5ml 灭菌离心管

实验步骤

1. 短暂离心 PCR 产物或酶促反应产物。
2. 用移液枪测量其体积，并转移至灭菌的 2ml 离心管中。
不需去除矿物油。测量体积时只需测 PCR 反应液体积，不包括矿物油的体积。
3. **加入适量体积的 Buffer DP 至产物中，涡旋混匀 15 秒。**
 - 3.1. 回收>100bp 片段：加入 3 倍体积 Buffer DP 至产物中；
 - 3.2. 回收<100bp 片段：加入 3 倍体积 Buffer DP 和 1 倍体积异丙醇至产物中；
4. 短暂离心收集管壁上的液滴。
5. 将 HiPure DNA 柱子套在收集管中。**把混合液转移至柱子中。**10,000 \times g 离心 15~60 秒。

6. (可选: 混合液>700 μ l) 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中。**把剩余的混合液转移至柱子中。**10,000 \times g 离心 15~60 秒。
7. 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中。**加入 500 μ l Buffer DW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。**10,000 \times g 离心 15~60 秒。
使用 Buffer DW2 之前, 必须用无水乙醇稀释。按瓶子上的标签指示。
8. (可选)倒弃滤液, 把柱子套回收集管中。**加入 500 μ l Buffer DW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。**10,000 \times g 离心 15~60 秒。
9. 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中。10,000 \times g 离心 2 分钟。
10. 把柱子套在 2ml 离心管中, **加入 7-30 μ l Elution Buffer 至柱子膜中央。**静置 1 分钟。
10,000 \times g 离心 1 分钟。
DNA Micro Column(D2120)最少洗脱体积为 7 μ l。DNA Mini Column 最少洗脱体积为 15 μ l(D2121)。
若需要获得最高产量, 建议重复第 9 步进行第二步洗脱。
11. 丢去柱子, 把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

常见问题

1. 回收效率低

- **洗脱不充分：**建议用洗脱液洗脱两次，以获得最高的回收率。洗脱液必须加入柱子的膜中央。洗脱效率取决于洗脱体积和次数。
- **试剂准备有误：** Buffer DW2 没有加入乙醇稀释或体积不准确(乙醇浓度需控制在 80%)。
- **结合液加入体积不足：** Buffer DP 的体积是样品体积的 3 倍。
- **样品含有表面活性剂：**处理含表面活性剂的酶促反应液时，加入 3 倍体积 Buffer DP 和 1 倍体积异丙醇至反应液进行回收。

2. 连接不理想

- **乙醇污染：**洗脱 DNA 前，打开柱子的盖子，空气干燥 10~15 分钟。
- **引物二聚体去除不干净：**当引物二聚体超过 100bp 时，建议使用 MagPure A3 XP(Cat.No. BP-5)进行回收。通过调整 MagPure A3 XP 与产物体积比例，可高效去除 100~300bp 的杂带。