

大片段 DNA 筛选试剂盒说明书

产品组成

大片段 DNA 筛选试剂盒	50 次制备	250 次制备
Cat. No.	2105050	2105250
核酸纯化柱	50 个	250 个
2 ml 离心管	50 个	250 个
Buffer P5	30 ml	75 ml×2
Buffer WB（浓缩液）	12 ml	60 ml
Buffer TE	5 ml	25 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

产品储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本试剂盒采用了柱纯化核酸的原理，适合从 PCR 扩增的反应液中清洁回收多至 20 µg 高纯度 DNA（200 bp-10 kb），回收效率在 70-80%之间，清洁后的 DNA 中不含引物、酶蛋白、单核苷酸、荧光染料或放射性同位素标记的单核苷酸。适用于各种要求的分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管、移液器及吸头
3. 一次性手套、纸巾及防护用品
4. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
5. 可能需要 3 M 氢氧化钠

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
2. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。

操作步骤

1. 向 PCR 产物中加入 5 倍体积的 Buffer P5，勿弃吸头，直接用移液器吸打几次混匀，并将混合液转移到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2 ml 离心管中），盖上管盖。

- * 比如需要清洁 100 μ l PCR 产物，则需要加入 500 μ l Buffer P5。
- * 如果要从大于 120 μ l 的 PCR 产物中清洁回收 DNA，请分多次将混合液转移到核酸纯化柱中（纯化柱最大容积是 750 μ l），按步骤 2 操作，直至混合液全部滤过核酸纯化柱。
- * Buffer P5 中所添加的染料可指示 pH 值，加入 Buffer P5 后混合溶液应为橙红色。如果加入 Buffer P5 后混合溶液变为黄色，则说明需要清洁的 DNA 溶液酸性过强，应加入 1-5 μ l 3 M 氢氧化钠，使混合溶液恢复至原来的橙红色，否则将影响 200 bp 以下 DNA 片段的去除效果。

2. 12000 rpm 离心 30 秒，弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中。

- * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

3. 在核酸纯化柱中加入 700 μ l Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中。

- * 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。

4. 14000 rpm 离心 1 分钟。弃 2 ml 离心管。

- * 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
- * 此步骤高速空离是为了去尽残留的乙醇，请勿省略，否则可能因所纯化的核酸中残留有乙醇而影响后续的实验效果。

5. 将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入 30—50 μ l Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒洗脱 DNA。

- * 如果离心机没有防泄漏的盖子，建议将洗脱 DNA 的条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以防止 1.5 ml 离心管管盖脱落而损伤离心机。
- * 不要用低于 30 μ l 的 Buffer TE 洗脱 DNA，否则会因为纯化柱的膜没有被充分湿润而有助于提高洗脱的 DNA 的浓度，反而降低了 DNA 的回收效率。
- * 也可用去离子水洗脱 DNA，但应确保所使用的去离子水的 pH 在 7.0-8.0，否则将影响 DNA 的洗脱效率。

6. 弃纯化柱，洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于 -20°C 备用。