

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	50 Preps	100 Preps	250 Preps
Buffer DP	30 ml	60 ml	180 ml
Buffer DW2*	10 ml	20 ml	50 ml
Elution Buffer	6 ml	10 ml	30 ml
HiPure DNA Micro Column	50	100	250
2 ml Collection Tube	50	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	30 ml	60 ml	180 ml
Buffer DW2*	10 ml	20 ml	50 ml
Elution Buffer	6 ml	10 ml	30 ml
HiPure DNA Mini Column I	50	100	250
2 ml Collection Tube	50	100	250

保存条件

本产品在室温下可以保存 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、粗制基因组 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~30Kbp 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 x g)
- 1.5ml 灭菌离心管

实验步骤

1. 短暂离心 PCR 产物、酶促反应产物、或粗制基因组 DNA，用移液枪测量其体积，并转移至新的 1.5 或 2.0ml 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。
2. **加入适量体积的 Buffer DP 至产物中，颠倒混匀 10-15 秒。**
 - 2.1. 回收 >100bp 片段：加入 3 倍体积 Buffer DP。
 - 2.2. 回收 <100bp 片段：加入 3 倍体积 Buffer DP 和 1 倍体积异丙醇。
 - 2.3. 回收基因组 DNA：用水把样品体积稀释至 200 μ l，加入 400 μ l Buffer DP 和 200 μ l 异丙醇。
3. 短暂离心收集管壁上的液滴。
4. **将 HiPure DNA 柱子套在收集管中。把混合液转移至柱子中。**10,000 x g 离心 15~60

秒。

5. (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。

6. 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中, 加入 600 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。

Buffer DW2 使用前, 按瓶子上的标签指示, 用无水乙醇进行稀释。

7. 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中, 加入 300 μ l Buffer DW2 (已用无水乙醇稀释) 至柱子中。10,000 \times g 离心 2 分钟。

取出柱子时, 不让柱子的底部碰到液体。若碰到液体后, 倒弃废液后再离心 1 分钟。对某些敏感应用(需将大部分洗脱液加入连接反应液时): 打开柱子的盖子, 空气干燥 5 分钟以彻底去除乙醇。

8. 把柱子套在 2 ml 离心管中, 加入 10~50 μ l Elution Buffer 至柱子膜中央, 放置 2~5 分钟。10,000 \times g 离心 1 分钟。丢去柱子, 把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

若需要获得最高产量, 建议重复第 8 步进行第二步洗脱。若回收大于 5KB 以上的片段时, 最好把 Elution Buffer 预热至 55 $^{\circ}$ C, 并重复 2-3 次洗脱。重复洗脱时, 可以把得到洗脱液再转移至柱子进行第二次或第三次洗脱, 以获得高浓度的 DNA。Elution Buffer 成分为 10mM Tris, pH8.5 可以用 Buffer TE 或灭菌水(pH>6.5)代替。

HiPure DNA Micro Column 最低的洗脱体积可低至 7 μ l, 最佳洗脱体积建议在 15-20 μ l。HiPure DNA Mini Column I 最低的洗脱体积可低至 15 μ l, 最佳洗脱体积建议在 30~50 μ l。

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 RW2 没有加入乙醇稀释或体积不准确(乙醇浓度需控制在 80%)。

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。