

SteadyPure微量PCR&胶回收试剂盒

SteadyPure PCR and Gel DNA Purification Mini Kit

Code No. AG21029

包装量: 50 rxns
保存温度: 室温 (15 ~ 30°C)

产品概述

本产品旨在给客户提供一种快速、简单的微量 DNA 片段回收方法，既能从 PCR 产物及其他酶促反应产物中回收 DNA 片段，又能从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段。

本产品采用微量纯化柱，最小洗脱体积可低至 10 μ l，柱结合能力可达 12 μ g。若样本浓度较低或样本量较少，使用公司产品 SteadyPure PCR 反应液纯化试剂盒 (Code. AG21003) 或 SteadyPure DNA 凝胶回收试剂盒 (Code. AG21005) 未能得到较好的纯化结果时，可以选择本产品进行 DNA 片段回收。

使用本产品回收所得的 DNA 片段溶解于 Elution Buffer 或灭菌水中，可直接用于后续基因克隆、DNA 序列分析、体外转录、限制酶切以及其他各种酶促反应。

安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请穿戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

【注意：实验过程中产生的废液需要收集在废液桶中专门处理。】

如果缓冲液 Buffer MB 不小心溅出，请立刻用清水冲洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

产品组成

Buffer MB ^{*1}	50 ml
Buffer WB ^{*2}	27 ml
Elution Buffer	10 ml
PCR and Gel DNA Mini Columns	50 sets
Collection tubes	50 pcs

*1: 温度较低时，Buffer MB 可能会出现沉淀，使用前可于 37°C 加热直至沉淀消失，然后再使用。

*2: Buffer WB 首次使用前，请添加 63 ml 的无水乙醇 (Buffer WB 与无水乙醇体积比为 3:7)，混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

实验前准备

1. 自备：无水乙醇、灭菌水、水浴锅、1.5 ml 离心管 (RNase-free)、枪头 (RNase-free)、移液器。
2. 温度较低时，Buffer MB 可能会出现沉淀，使用前可于 37°C 加热直至沉淀消失，然后再使用。
3. Buffer WB 首次使用前，请添加 63 ml 的无水乙醇 (Buffer WB 与无水乙醇体积比为 3:7)，混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。
4. 将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50 ~ 65°C 备用，可提高 DNA 的洗脱效率。

保存及运输

保存温度: 室温 (15 ~ 30°C) 保存

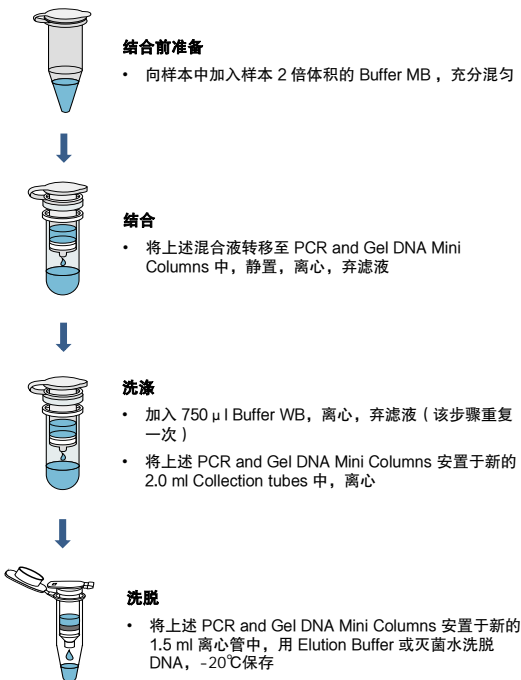
运输温度: 室温 (15 ~ 30°C) 运输

➤ 注意事项

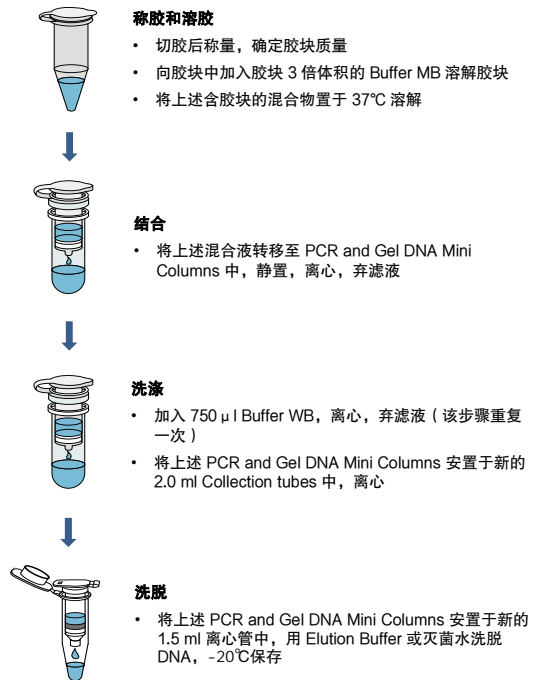
1. 本产品既可从 PCR 产物或酶促反应产物中回收 DNA 片段（具体操作见<操作流程-PCR 产物回收步骤>），也可从琼脂糖凝胶中回收 DNA 片段（具体操作见<操作流程-胶回收步骤>）。
2. PCR and Gel DNA Mini Columns 的最大柱结合能力为 12 μg ，建议样本起始上样量不超过 12 μg （例：样本浓度为 200 $\text{ng}/\mu\text{l}$ ，则起始上样量应不超过 60 μl ）；若样本起始上样量超过 12 μg ，建议使用多个 PCR and Gel DNA Mini Columns 回收，或使用本公司其他产品：*SteadyPure* PCR 反应液纯化试剂盒（Code: AG21003），或 *SteadyPure* DNA 凝胶回收试剂盒（Code: AG21005）。
3. 切胶时应在确保切下完整 DNA 的同时尽量减小凝胶量，否则会影响 DNA 收量。
4. 切胶时应动作迅速，避免长时间暴露于紫外灯下造成 DNA 损伤。
5. 溶胶需完全，溶胶不完全会导致 DNA 损失及 DNA 解离不充分。
6. 操作过程中，PCR and Gel DNA Mini Columns 的吸附柱放入 Collection tubes 或 1.5 ml 离心管中（或从中取出）的过程需竖直操作，避免吸附柱柱头触碰管壁，造成污染。
7. 操作过程中，需室温离心的步骤，请确保离心机温度保持在 20 ~ 25 $^{\circ}\text{C}$ ，避免溶液中晶体析出。
8. 回收的 DNA 需长期保存时，建议使用 Elution Buffer 洗脱 DNA。

➤ 操作流程简图

PCR 产物回收步骤



胶回收步骤



操作流程

PCR 产物回收步骤

1. 向需要进行回收的 PCR 产物样本或其它酶促反应产物样本中加入样本 2 倍体积的 Buffer MB，充分混匀（建议采用涡旋振荡或移液器反复吹打等方法）。
【注：如果样本起始量不足 10 μ l，请用灭菌水补足至 10 μ l。】
2. 将上述混合液转移至 PCR and Gel DNA Mini Columns 中，室温静置 1 min 后，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。
【注：① 样本起始上样量应不超过 12 μ g（例：样本浓度为 200 ng / μ l，则起始上样量应不超过 60 μ l），若样本起始上样量超过 12 μ g，建议使用多个 PCR and Gel DNA Mini Columns 回收，或使用本公司 SteadyPure PCR 反应液纯化试剂盒（Code. AG21003）；
② PCR and Gel DNA Mini Columns 的最大容积为 750 μ l，转移时如果液体的体积超出最大容积，请分次转移：上样 750 μ l 混合液后，静置，离心，弃滤液，然后将剩余混合液再次上样，重复此步骤。】
3. 向上述 PCR and Gel DNA Mini Columns 中加入 750 μ l 的 Buffer WB，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。
【注：请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的无水乙醇（Buffer WB 与无水乙醇体积比为 3:7）。】
4. 重复步骤 3 一次。
5. 将上述 PCR and Gel DNA Mini Columns 安置于新的 2.0 ml Collection tubes 中，12,000 rpm 室温离心 2 min。
【注：① 此步骤需竖直将吸附柱放入（取出），避免吸附柱柱头触碰收集管壁，造成污染；
② 安置于新的 2.0 ml Collection tubes 中，有利于提高 DNA 纯度。】
6. 将上述 PCR and Gel DNA Mini Columns 安置于新的 1.5 ml 离心管中，在 PCR and Gel DNA Mini Columns 的膜中央处加入 10 ~ 30 μ l Elution Buffer 或灭菌水，室温静置 1 min 后，12,000 rpm 室温离心 2 min 洗脱 DNA。洗脱下来的 DNA 可直接用于后续检测或置于 -20 $^{\circ}$ C 中保存。
【注：① 此步骤需竖直将吸附柱放入（取出），避免吸附柱柱头触碰收集管壁或离心管壁，造成污染；
② 将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50 ~ 65 $^{\circ}$ C 使用时有利于提高 DNA 的洗脱效率。】

胶回收步骤

1. 从琼脂糖凝胶中切下单一的目的 DNA 条带，放入干净的离心管中，称量，确定胶块质量。
【注：① 切胶时，尽可能地不含目的 DNA 条带的胶块切除，以减少凝胶质量；
② 建议使用干净纸巾吸除凝胶表面的电泳液；
③ 称量胶块前应将离心管去重，以获得胶块净重。】
2. 向胶块中加入胶块 3 倍体积的 Buffer MB，溶解胶块。
【注：若琼脂糖凝胶胶块的质量为 100 mg，其体积可视为 100 μ l，对应加入 300 μ l 的 Buffer MB。】
3. 将上述含胶块的混合物，置于 37 $^{\circ}$ C 水浴 5 ~ 10 min。加热溶解期间应每隔 2 min 将离心管取出颠倒混匀，使胶块完全溶解。凝胶溶解完毕后，将溶液静置恢复至室温。此时溶液应呈黄色。
【注：① 若水浴 10 min 未能将胶块完全溶解，可适当延长溶解时间至胶块完全溶解，避免因胶块溶解不完全而导致 DNA 损失及 DNA 解离不充分；
② 观察溶液的颜色，如果溶液颜色由黄色变为橙色或粉色，可向上述溶液少量多次（建议 10 μ l / 次）加入 3 M 醋酸钠溶液（pH 5.2），均匀混合，直至溶液恢复至黄色。】

4. 将上述混合液转移至 PCR and Gel DNA Mini Columns 中，室温静置 1 min 后，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。
【注：① 样本起始上样量应不超过 12 μg (例：样本浓度为 200 ng / μl，则起始上样量应不超过 60 μl)，若样本起始上样量超过 12 μg，建议使用多个 PCR and Gel DNA Mini Columns 回收，或使用本公司 SteadyPure DNA 凝胶回收试剂盒 (Code. AG21005)；
② PCR and Gel DNA Mini Columns 的最大容积为 750 μl，转移时如果液体的体积超出最大容积，请分次转移：上样 750 μl 混合液后，静置，离心，弃滤液，然后将剩余混合液再次上样，重复此步骤。】
5. 向上述 PCR and Gel DNA Mini Columns 中加入 750 μl 的 Buffer WB，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。
【注：请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的无水乙醇 (Buffer WB 与无水乙醇体积比为 3 : 7) 。】
6. 重复步骤 5 一次。
7. 将上述 PCR and Gel DNA Mini Columns 安置于新的 2.0 ml Collection tubes 中，12,000 rpm 室温离心 2 min。
【注：① 此步骤需竖直将吸附柱放入 (取出)，避免吸附柱柱头触碰收集管壁，造成污染；
② 安置于新的 2.0 ml Collection tubes 中，有利于提高 DNA 纯度。】
8. 将上述 PCR and Gel DNA Mini Columns 安置于新的 1.5 ml 离心管中，在 PCR and Gel DNA Mini Columns 的膜中央处加入 10 ~ 30 μl Elution Buffer 或灭菌水，室温静置 1 min 后，12,000 rpm 室温离心 2 min 洗脱 DNA。洗脱下来的 DNA 可直接用于后续检测或置于 -20°C 中保存。
【注：① 此步骤需竖直将吸附柱放入 (取出)，避免吸附柱柱头触碰收集管壁或离心管壁，造成污染；
② 将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50 ~ 65°C 使用时有利于提高 DNA 的洗脱效率。】