

# ATGPure<sup>®</sup> PCR product purification Kit

## 柱式 PCR 产物纯化试剂盒

D103



产品说明书  
PRODUCT MANUAL

南京巨匠生物科技有限公司  
ATG BIOTECHNOLOGY CO.,LTD

## 目录 Product Manual

产品简介 .....	1
产品特点 .....	1
产品组成 .....	1
储存条件 .....	1
注意事项 .....	1
实验方案 .....	2
常见问题 .....	3

## 产品简介

本试剂盒适用于从 PCR 反应液或各种酶促反应液中纯化回收 DNA 片段。该试剂盒采用特殊的吸附膜，能够有选择性地吸附核酸分子，去除反应液中的各种酶蛋白、引物、dNTP Mix 等，得到高质量的 DNA 纯化产物，可直接用于酶切、测序等后续分子生物学试验。

## 产品特点

适用范围广，回收效率高。

操作简单快速，整个回收过程仅需 5 min 左右。

洗脱效率高，洗脱体积最小可低至 15  $\mu$ l。

## 产品组成

组分	D103-050 (50 rxns)	D103-100 (100 rxns)
纯化套件（吸附柱+收集管）	50 套	100 套
Buffer B3	24 ml	48 ml
Wash Solution	12 ml	24 ml
Elution Buffer	5 ml	10 ml
操作手册	1 份	1 份

## 储存条件

本试剂盒在室温 (15 ~ 25°C) 干燥保存，有效期见包装。

## 注意事项：

Buffer B3 中含有刺激性的化合物，操作过程中应穿上实验服，戴好乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服，防止吸入口鼻。沾染皮肤或眼睛后，请立即用清水或生理盐水冲洗，必要时寻求医生的帮助。

## 操作步骤：

**自备材料：**水浴锅、小型高速离心机 (最大离心力 $\geq 12,000 \times g$ )、1.5 ml 离心管、无水乙醇、异丙醇等。

按瓶身标签说明在 Wash Solution 中加入相应量的无水乙醇 (乙醇终浓度为 80%)，混匀后在瓶身做好标记。于室温密封保存。

按瓶身标签说明在 Buffer B3 中加入相应量的异丙醇 (异丙醇终浓度为 20%)，混匀后在瓶身做好标记。密封于室温保存。

每次使用前请检查 Buffer B3 是否出现沉淀，如有沉淀，请于 37°C 溶解沉淀，待冷却至室温后使用。提前将水浴调至 55°C 备用。

1. 将 PCR 反应液或酶促反应液移至一干净的 1.5 ml 离心管中，加入 3 倍体积的 Buffer B3，充分混匀。

- ❖ 首次使用前请先检查是否已加入适量的异丙醇。
- ❖ 若反应液体积小，可用 TE 或水补足至 100  $\mu$ l，然后再加入 300  $\mu$ l Buffer B3。

2. 将混合液全部移入吸附柱，8,000  $\times g$  离心 30 sec。倒掉收集管中的液体，将吸附柱放入同一个收集管中。

- ❖ 如果体系总体积大于 750  $\mu$ l，则每次使用 750  $\mu$ l，多次上柱。
- ❖ 将滤出液再次加入吸附柱中再次过柱，可以进一步提高 DNA 回收率。

3. 向吸附柱中加入 500  $\mu$ l Wash Solution，9,000  $\times g$  离心 30 sec。倒掉收集管中的液体，将吸附柱放入同一个收集管中。

- ❖ Wash Solution 首次使用前请检查是否已加入正确量的无水乙醇。

4. 重复步骤 3 一次。

5. 将空吸附柱和收集管放入离心机，9,000  $\times g$  离心 1 min，将吸附柱置于新的 1.5 ml 离心管中。

- ❖ 此步绝不可省略，否则残余的乙醇会严重影响得率和后续实验。
- ❖ 离心后可将吸附柱与 1.5 ml 离心管整个装置开盖放于 50°C 烘箱、超净台或通风橱中吹风 5 ~ 10 min，以彻底去除残留的乙醇。

6. 在吸附膜中央加入 15 ~ 40  $\mu$ l Elution Buffer，室温静置 1 ~ 2 min，9,000  $\times g$  离心 1 min。将所得到的 DNA 溶液置于 -20°C 保存或用于后续试验。

- ❖ Elution Buffer 为 2.5 mM Tris-HCl, pH 8.5，可以用 TE 或水 (pH > 7.0) 代替。
- ❖ 将 Elution Buffer 预热至 60°C 可以进一步提高得率。
- ❖ 如果片段 > 4 kb，在 37 ~ 60°C 温浴 2 min 可以显著提高得率。
- ❖ 请勿使用小于 15  $\mu$ l 的洗脱液进行洗脱。

## 常见问题：

### 1. PCR 产物回收效率较低或者未回收到目的片段：

- A. Wash Solution 中未加入正确量的无水乙醇。
- B. 提高 Buffer B3 的相对浓度，增加 DNA 与吸附膜的作用时间（静置时间），在一定程度上可以提高回收率。
- C. 如果纯化的片段长度大于 4 kb 或者目的片段含量较少，可将洗脱液再次加入吸附柱进行洗脱，以提高回收效率。
- D. 洗脱液加入位置不正确：洗脱液应加在硅胶膜的中心部位，以完全覆盖硅胶膜的表面，达到最大的洗脱效率。
- E. 洗脱液不合适：洗脱缓冲液的 pH 值对洗脱效率有影响，如果使用水进行洗脱，请确保其 pH 值 $>7.0$ ，pH 值过低可能导致低洗脱效率。
- F. 洗脱时将洗脱液预热至  $60^{\circ}\text{C}$  后使用，有利于提高洗脱效率。
- G. 洗脱时间过短：洗脱时间对回收率也有影响。洗脱时放置 1 min 可达到较好的效果。

### 2. 回收的 PCR 产物进行后续酶切或者连接效率低：

- A. 若洗脱产物中含有残留的乙醇会影响酶切。可将空柱离心后的吸附柱开盖室温晾干 2 ~ 5 min，有助于残留的乙醇挥发完全。
- B. 盐分的残留。请确保使用 Wash Solution 洗涤两次，每次 500  $\mu\text{l}$  沿管壁加入，有助于彻底去除管壁上的盐份。
- C. 回收后的 PCR 产物在反复冻溶的情况下，会加速末端 A 和整个 PCR 产物的断裂，从而造成与 T 载体连接或直接酶切效率的下降。建议回收后立即进行酶切或连接实验。选择合适的 PCR 产物和 T 载体的分子数比例，有助于提高连接效率。

### 3. 回收的片段为什么电泳上样会漂起来？

- A. 主要原因是纯化过程中的乙醇没有去除干净。可将离心后的吸附柱开盖于  $50^{\circ}\text{C}$  烘箱、超净台或通风橱干燥 2 ~ 5 min，有助于残留的乙醇挥发完全。



025-85653525

[www.atgbiotechnology.com](http://www.atgbiotechnology.com)

南京市栖霞区江苏生命科技园D6幢710室