



ELK Biotechnology
For research use only.

PCR Purification Kit

PCR 产物回收试剂盒说明书

货号	规格	储藏/有效期
EP005-50T	50T	室温/一年
EP005-200T	200T	室温/一年

产品介绍

本试剂盒可从 PCR 反应体系中回收得到不含盐或低盐、不含蛋白质、RNA 等杂质的高纯度 DNA 片段。200 bp-10 kbp 的 DNA 片段回收率 80%以上,并可回收单链、双链 DNA 片段以及环状质粒 DNA。回收得到的片段 DNA 均可直接进行酶切、酶连、测序反应。

试剂盒组成

成分	EP005-50T	EP005-200T	Storage
Solution PG	20 ml	80 ml	RT
Wash Buffer	60 ml	240 ml	RT
Elution Buffer	5 ml	20 ml	RT
吸附柱 G 柱	50 套	200 套	RT
说明书	1 份	1 份	RT

一、使用前准备

Solution PG: 开盖后如果长时间未使用, 请检查 Solution PG 的 pH, 确保 $\text{pH} \leq 7.5$ 。

Wash Buffer: 使用前请将无水乙醇加入 Wash Buffer (试剂瓶上有标签提示) 中。

二、操作步骤

- 按照 PCR 产物: Solution PG=1:5 的比例加入 Solution PG (例如: 50 μl PCR 反应体系加入 250 μl Solution PG), 颠倒混匀。若片段长度小于 500 bp, 按照 1:6 的比例加入 Solution PG。
- (选做)** 将装有混合液的 EP 管转至高速离心机, 室温下 10,000 \times g 离心 30 sec, 以甩下吸附在离心管壁的残留溶液, 最大限度提高回收率。
- 将上一步得到的混合液添加至本试剂盒提供的吸附柱 G 柱中 (如一次无法加完, 可分多次加入), 室温下 10,000 \times g 离心 1 min。弃掉收集管中的废液。如有需要, 此步骤可以重复一次, 对低浓度的核



ELK Biotechnology

For research use only.

酸回收率有较明显提高。

4. 向吸附柱G柱中加入600 μl Wash Buffer , 室温下13,000 \times g离心1 min , 弃废液。
5. 重复步骤4。
6. 室温下13,000 \times g离心 2 min以彻底甩下Wash Buffer的残留。
7. 取出吸附柱G柱并放入新的EP管中, 将吸附柱G柱开盖室温下静置2 min, 如有需要可放在空调风口吹1-2 min, 以彻底去除残留的乙醇。
8. 向吸附柱G柱正中间加入15-50 μl (建议用量为30 μl) Elution Buffer或ddH₂O (50 $^{\circ}\text{C}$ 水浴后的溶解液溶解效果更好), 静置2-5 min待吸附的DNA片段完全溶解, 室温下13,000 \times g离心2 min即得到回收的DNA片段。

注: 回收得到的 DNA可直接用于基因克隆、扩增、测序、酶切等。

三、DNA 浓度及纯度

DNA浓度($\mu\text{g}/\text{ml}$) = $\text{OD}_{260} \times 50 \times \text{稀释倍数}$, $\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 约为1.8-2.0。

四、注意事项

1. 使用前请检查 Solution PG 是否出现结晶或者沉淀, 如有结晶或者沉淀现象, 在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴几分钟, 即可恢复澄清。
2. 回收效率与初始 DNA 量和洗脱体积有关, 初始量越少, 洗脱体积越少, 回收率越低。
3. 所有离心步骤均可室温下进行。

五、常见问题及解答

常见问题	可能原因	建议
回收率低 或没条带	PCR 液过多	每次 PCR 液总量应当小于 300 μl 。
	Wash Buffer 中没有加入无水乙醇	确保 Wash Buffer 中加入无水乙醇。
	洗涤液使用不当	确保使用试剂盒提供的 Wash Buffer。
	洗脱不充分	确保足够洗脱时间, Elution Buffer 用前可 55 $^{\circ}\text{C}$ 预热, 直接测序或者酶切建议用去离子水溶解。
	样品过少, 浓度过低	加大样品用量。
回收产物 无法进行 后续实验	乙醇残留	室温低时, 可适当延长晾干时间, 或放在空调前吹干残留的乙醇。
	盐残留	确保洗涤液用量和洗涤次数, 每次离心将液体离尽。