

---

版本号:250405**AidQuick PCR Purification Midi Kit****大量 PCR 产物纯化回收试剂盒****目录号: DR09****❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:**

| 试剂盒组成       | 保存 | 50 次 (DR0901)                |
|-------------|----|------------------------------|
| 平衡液         | 室温 | 5 ml                         |
| 结合液 BB      | 室温 | 50 ml                        |
| 漂洗液 RW      | 室温 | 13 ml<br>第一次使用前按瓶子标签指示加入无水乙醇 |
| 洗脱缓冲液 EB    | 室温 | 10 ml                        |
| 吸附柱 EC (加厚) | 室温 | 50 个                         |
| 收集管 (2 ml)  | 室温 | 50 个                         |

按照指定温度储存, 12 个月内不影响使用效果。

**储存事项:**

1. 所有的溶液应该是澄清的, 如果环境温度低时溶液可能形成沉淀, 此时不应该直接使用, 可在 37°C 水浴加热几分钟, 即可恢复澄清。使用前应该恢复到室温。
2. 储存于低温 (4°C 或者 -20°C) 会造成溶液沉淀, 影响使用效果, 因此运输和储存均在室温下进行。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

## ❖ 产品介绍：

在高离序盐存在的情况下，DNA 片段选择性的吸附于离心柱内的硅基质膜上，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，漂洗液将引物、核苷酸、蛋白、酶等杂质去除，最后低盐、高 pH 值的洗脱缓冲液将纯净 DNA 从硅基质膜上洗脱。

采用加厚吸附膜，吸附 DNA 能力是常规 PCR 产物纯化回收试剂盒高 2.5 倍左右，最大能吸附 20-30  $\mu\text{g}$  DNA，适合中/大量 PCR 产物纯化回收。

## ❖ 产品特点：

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。
2. 使用了优质结合液，不含传统溶胶液的碘化钠和高氯酸盐，不抑制回收后酶切、连接克隆等下游反应。
3. 结合液加酚红调制成为了黄颜色，便于监测 pH 值变化从而达到最佳结合效果，大大提高回收效率。
4. 改进的结合液配方，大大提高了缓冲能力和稳定性，即使样品变化很大也能将 pH 缓冲在最佳结合范围内，不需要加醋酸调节 pH。
5. 快速、方便，不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀。

## ❖ 注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到 12,000 rpm 的传统台式离心机。
2. 结合液和平衡液中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，**避免沾染皮肤，眼睛。若沾染皮肤、眼睛时，要立即用大量清水或者生理盐水冲洗。**
3. 回收纯化的 DNA 片段一般在 70 bp 到 40 kb 之间，过长、过短片段的回收效率迅速降低。本试剂盒即使回收 70 bp 小片段也有突出领先的回收效率。
4. 回收 DNA 的量和起始 DNA 的量、洗脱体积、DNA 片断大小有关。一般 1-15

µg, 100 bp–5 kb的DNA片段, 回收率可高达95%。

5. **洗脱液EB不含有螯合剂EDTA**, 不影响下游酶切、连接等反应。**也可以使用水洗脱, 但应该确保pH大于7.5**, pH过低影响洗脱效率。用水洗脱, DNA片段应该保存在-20°C。DNA片段如果需要长期保存, 可以用TE缓冲液洗脱 (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0), 但是EDTA可能影响下游酶切反应, 使用时可以适当稀释。

## ❖ 操作步骤

**提示:** 第一次使用前请先在漂洗液 WB 瓶中按照标签指示加入指定量无水乙醇, 加入后请及时打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入!

1. 按照 5:1 (结合液: 样品) 的比例, 将结合液 BB 加入到 PCR 扩增产物或者酶切产物中, 充分混匀。(例如 100 µl PCR 扩增后产物或者酶切后产物加入 500 µl 结合液 BB, 充分混匀)。
2. **柱平衡:** 向吸附柱 EC 中加入 100 µl 平衡液, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液, 备用。
  - ▲ 平衡液可以增强硅胶膜的吸附核酸能力, 请使用当天处理的吸附柱。
3. 将上一步所得溶液加入吸附柱 EC 中 (吸附柱放入收集管中), 室温放置 1 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液。
  - ▲ 如果总体积超过 750 µl, 可分两次将溶液加入同一个吸附柱 EC 中。
  - ▲ 过滤下的结合液和收集管内残存的强碱性平衡液混合后, 结合液可能会从黄色变成橘红甚至紫色, 此为酚红 pH 指示剂碱性条件下的正常颜色变化。
4. 加入 600 µl 漂洗液 WB (**请先检查是否已加入无水乙醇!**), 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃滤液。再加入 600 µl 漂洗液 WB 重复漂洗一次, 弃滤液。
5. 将吸附柱放回空收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
6. 取出吸附柱, 放入一个干净的离心管中, 在吸附膜的中间部位加 50–100 µl 洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液事先在 80°C–90°C 水浴中预热可提高产量), 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃吸附柱。

▲ 推荐：为了增加 DNA 的回收效率，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置 1 min，12, 000 rpm 离心 1 min。洗脱两遍可提高浓度约 10%。

▲ 洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要 DNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是需注意体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少产量(最小不应少于 50  $\mu$ l)。