

# PCR 产物纯化试剂盒（柱式法）使用说明书

## 【预期用途】

PCR 产物纯化试剂盒用于从 PCR 扩增产物中纯化 DNA 片段, DNA 片段总回收率大于 90%。

## 【检验原理】

在结合缓冲液高盐低 pH 值的环境下, 吸附柱内的硅胶膜高效吸附 PCR 产物中的 DNA; 洗涤吸附柱, 去除蛋白、盐等杂质; 在洗脱液低盐高 pH 值的情况下, 硅胶膜释放吸附的 DNA, 从而达到快速纯化 DNA 的目的。

## 【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-Pu01	结合缓冲液	14mL×1 瓶	28mL×1 瓶	56mL×1 瓶
	吸附柱 (含收集管)	50 支	100 支	200 支
	洗脱液 B	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶
	3M 乙酸钠	0.5mL×1 支	1mL×1 支	2mL×1 支
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

**所有成分:** 常温 (10-30℃) 运输保存, 有效期 1 年。

### **【注意事项】** 使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 结合缓冲液使用前必须加入异丙醇，使异丙醇浓度达到 30%。
2. 提前配制80%乙醇水溶液，乙醇水溶液中乙醇含量低于80%会影响提取效果。
3. 结合缓冲液包含pH指示剂，其在 $\text{pH} \leq 7.5$ 时为黄色，缓冲液在较高pH下为橙色或紫色。吸附柱对DNA的吸附仅在 $\text{pH} \leq 7.5$ 时有效，吸附最佳pH在5.0至7.0之间。
4. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
5. 虽然本产品无氯仿、苯等OSHA规定的危险物品，但操作时最好做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
6. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

### **【样本要求】**

PCR 扩增产物。

### **【自备器械和试剂】**

小型高速离心机（最大离心力 $\geq 12,000 \times g$ ）、1.5mL 离心管、无水乙醇和异丙醇等。

- **结合缓冲液配制：**结合缓冲液使用前按瓶身标签说明加入相应量的异丙醇，使异丙醇含量为 30%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：**1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。

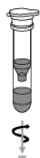
## 【快速操作流程】



加样



吸附核酸



洗涤



洗脱

1. 准备工作
  - 检查含异丙醇结合缓冲液是否配制。
  - 检查80%乙醇水溶液是否配制。
2. 在1.5mL离心管中加入PCR产物和5倍PCR产物体积的结合缓冲液，混匀。
3. 检查混合液的颜色是否为黄色。如果混合液的颜色是橙色或紫色，加入 10 $\mu$ L 的 3M 乙酸钠混匀。
4. 将吸附柱放入收集管中，转移混合液至吸附柱。
5. 12,000 $\times$ g离心1分钟。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。
6. 加入600 $\mu$ L 80%乙醇水溶液，12,000 $\times$ g离心20秒。取出吸附柱，丢弃收集管。
7. 将吸附柱放入新的1.5mL离心管中，12,000 $\times$ g离心3分钟。取出吸附柱，丢弃离心管。
8. 将吸附柱放入新的1.5mL离心管中，加入50 $\mu$ L洗脱液B至吸附柱中心位置。闭盖室温静置3分钟，12,000 $\times$ g离心1分钟，收集洗脱液。

**【标准操作步骤】**

1. 在1.5mL离心管中加入PCR产物和5倍PCR产物体积的结合缓冲液（使用前请确认已加入异丙醇），混匀。比如，50 $\mu$ L PCR产物加入250 $\mu$ L结合缓冲液。

---

► PCR产物片段小于100bp片段时，额外增加1倍PCR产物体积的异丙醇。比如，50 $\mu$ L小片段PCR产物额外加入50 $\mu$ L异丙醇。

2. 检查混合液的颜色是否为黄色（类似于结合缓冲液的颜色）。如果混合液的颜色是橙色或紫色，加入10 $\mu$ L的3M乙酸钠混匀，使混合液的颜色变为黄色。

---

3. 将吸附柱放入收集管中，转移混合液至吸附柱，闭盖 12,000 $\times$ g 离心 1 分钟。吸弃废液，将吸附柱重新放入收集管中。

---

►转移液体时，避免液体接触吸附柱的管口。

5. 开盖，在吸附柱中加入 600 $\mu$ L 80%乙醇水溶液，闭盖 12,000 $\times$ g 离心 20 秒。取出吸附柱，丢弃收集管。将吸附柱放入新的 1.5mL 离心管中。

---

6. 闭盖12,000 $\times$ g离心3分钟。取出吸附柱，丢弃离心管。

---

7.将吸附柱放入新的 1.5mL 离心管中，加入 50 $\mu$ L 洗脱液 B 至吸附柱中心，闭盖。室温静置 3 分钟，12,000 $\times$ g 离心 1 分钟，收集洗脱液，备用。

---

►洗脱液 B 的使用量可以根据需要调整，但不得低于 30 $\mu$ L。

►洗脱液的使用量太少会影响提取效果。

## 【PCR 产物纯化（柱式法）常见问题】

常见问题	原因	解决方案
回收/纯化产量低	1. 回收/纯化片段过小	PCR 产物片段小于 100bp 时，额外增加 1 倍的产物体积的异丙醇。
	2. PCR 扩增效率不高，产物浓度不足。	增加 PCR 产物的使用量；优化 PCR 扩增体系。
	3. 80%乙醇水溶液中乙醇添加比例不当。	使用无水乙醇配制 80%乙醇水溶液，使乙醇含量达 80%。
	4. 洗脱不当	洗脱液加至膜中央，适当减少洗脱体积，可 65°C 预热、延长室温放置时间或者进行二次洗脱。
纯度低	1. 盐离子残留	增加 1 次 80%乙醇水溶液洗涤。
	2. 乙醇残留	最后一次洗涤后，吸附柱闭盖 12,000×g 再离心 3 分钟。

【说明书编制日期】 2024 年 01 月 25 日

### 【基本信息】

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司

公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室

网 址：[www.wuxi-medtech.com](http://www.wuxi-medtech.com)

联系电话：173 1562 0564（刘经理）





