

**PowerClean® Pro DNA Clean-Up Kit****DNA PCR 抑制因子去除试剂盒**

货号	提取次数
12997-50	50 次

简介

PowerClean® Pro DNA Clean-Up Kit 使用了专利抑制因子去除技术 (IRT) 为科研工作者提供创新手段纯化粗提基因组 DNA。与原有的 PowerClean® DNA Clean-Up Kit 相比极大优化纯化过程, 更少的操作步骤, 前后只需 7min。无色透明的 DNA 样品可能也会含有 PCR 抑制因子, 而呈现琥珀色到棕色, 含有大量腐植酸和多酚等 PCR 抑制因子的粗提 DNA 也能通过本试剂盒纯化。PowerClean® Pro DNA Clean-Up Kit 能去除这种棕黑色以及腐植酸、亚铁血红素、多糖、多酚、富哩酸、脂质、染料等 PCR 抑制因子。获得的高纯度 DNA 可直接用于 PCR、qPCR 和第二代测序等要求苛刻的下游应用。本试剂盒已通过各种问题土壤粗提 DNA 和掺入商品化腐植酸检验。甚至对各种来源 DNA 样品都表现良好。

操作预览

存档 DNA 或粗提 DNA 样品与我们的专利 DNA Clean-Up 试剂盒混匀, 抑制因子被选择性地从 DNA 溶液中去。所有 DNA 被离心柱的硅胶滤膜吸附, 然后被洗脱下来。DNA 的回收率会因影响 DNA 浓度检测的抑制因子含量不同而有差异。最终 DNA 可直接用于 PCR 分析或其它下游应用。建议使用 Picogreen 法或电泳定量检测 DNA 回收率。

相关产品	货号	数量
PowerSoil® DNA Isolation Kit	12888-50	50 preps
	12888-100	250 preps
UltraClean® PCR Clean-up Kit	12500-50	50 preps
	12500-100	100 preps
	12500-250	250 preps
UltraClean® GelSpin® DNA Extraction Kit	12400-50	50 preps
	12400-100	100 preps
	12400-250	250 preps



PowerClean[®] Pro DNA Isolation Kit





设备要求:

微型离心机 (16000g)

移液器 (50 μ l~600 μ l)

Vortex-Genie®2 涡旋仪 (MO BIO 货号#13111-V-220)

试剂盒组分

	货号: 12997-50
组分	量
Solution DC1	3ml
Solution DC2	3ml
Solution DC3	22ml
Solution DC4	2 \times 28ml
Solution DC5	6ml
Spin Filters	50
2ml Collection Tubes	200

△实验前请先逐一检查试剂!

保存

组分室温 (15-30°C) 保存。

操作步骤

- 1、加入 100 μ l DNA 样品到一个 **2ml Collection Tube** (试剂盒提供) 中。若 DNA 样品少于 100 μ l, 加入双蒸水调整体积。

这一步发生了什么: 样品加入到收集管后, PowerClean® Pro DNA 溶液含有的试剂减弱分子间作用力 (A), 溶解腐殖质 (B) 保护核酸免于降解。

- 2、加入 50 μ l **Solution DC 1** 到 DNA 溶液中, 稍微涡旋混匀。

这一步发生了什么: 涡旋混匀 Tube 管中的物质, 开始把 DNA 从腐殖质中分离。

- 3、加入 50 μ l **Solution DC2**, 稍微涡旋混匀。

这一步发生了什么: Solution DC2 是专利的抑制因子去除技术 (inhibitor Removal Technology®) 的一部分。它含有可沉淀腐殖质、蛋白等非 DNA 的有机和无机物质的试剂。这些有机和无机物质会影响 DNA 纯度并抑制下游实验, 必须去除。

- 4、室温 13000g 离心 2min。

- 5、避开沉淀, 转移所有上清到一个新的 **2ml Collection Tube** (试剂盒提供) 中。

这一步发生了什么: 沉淀为腐殖质、蛋白等非 DNA 有机和无机成分。为获得最佳 DNA 得率和质量, 转移上清时避开沉淀。



注意：这一步约可获得 160-190 μl 上清液。具体回收到的体积由起始样品本身决定，与提取效率不相关。

- 6、使用前摇匀 **Solution DC3**。加入 400 μl **Solution DC3**，稍微涡旋混匀。

这一步发生了什么：**Solution DC3** 为高浓度盐溶液。DNA 在高浓度盐环境下能紧紧吸附到硅胶上，此溶液可调整 DNA 绑定吸附到 Spin Filters 上的盐浓度。非 DNA 的有机和无机物质不被吸附，但仍会少量残留在滤膜上。

- 7、稍微离心，把 Tube 管帽上的溶液离下来。

- 8、最多加载 600 μl 上步混合液到 Spin Filter 上，室温 10000g 离心 1min，弃去滤液。

这一步发生了什么：在高盐环境下 DNA 选择性吸附到离心柱硅胶滤膜上。杂质通过滤膜，只留下 DNA 绑定在滤膜上。

- 9、加入 500 μl **Solution DC4** 到 Spin Filter 上，室温 10000g 离心 30s，弃去滤液。

- 10、再加 500 μl **Solution DC4** 到 Spin Filter 上，室温 10000g 离心 30s，弃去滤液。

这一步发生了什么：含有乙醇的冲洗缓冲液进一步冲洗绑定在硅胶离心柱滤膜上的 DNA。冲洗液只去除残余的盐、腐殖质等其它杂质，DNA 仍绑定在滤膜上。

- 11、室温下最大转速充分甩干步骤 9 和 10 残留下来的乙醇。

这一步发生了什么：此“甩干”步骤去除残余的乙醇冲洗缓冲液。未免影响下游 PCR、酶切、电泳等实验，需完全去除所有冲洗缓冲液。

- 12、小心转移 Spin Filter 到一个新的 2ml Collection Tube（试剂盒提供）中。避免再次接触到任何 **Solution DC4**。

- 13、若起始样品含有 50 μl 基因组 DNA，加入 50 μl **Solution DC5** 到白色滤膜中心。若其实样品为 100 μl 基因组 DNA，则加入 100 μl **Solution DC5** 到白色滤膜中心。室温孵育 1min。

注意：为了保证洗脱效率，无论其实加样量多少，至少使用 50 μl **Solution DC5**。通过减少洗脱体积，可获得更高浓度的 DNA。

室温 10000g 离心 1min。

这一步发生了什么：**Solution DC5** 通过硅胶滤膜时，DNA 也释放洗脱下来。

注意：把溶液（无菌洗脱缓冲液）加到白色滤膜中心，并充分润湿整个滤膜，以获得最大洗脱效率。**Solution DC5** 为 10mM Tris pH8，不含 EDTA。你也可以用无菌 DNA-Free PCR 级水（MOBIO 货号：17000-10）洗脱。若更关注 DNA 降解问题，也可以用无菌 TE 缓冲液洗脱 DNA。

- 14、弃去 Spin Filter。在收集管中的 DNA 可直接用于下游实验。建议（-20 $^{\circ}\text{C}$ ~-80 $^{\circ}\text{C}$ ）冷冻保存。**Solution DC5** 不含 EDTA。

感谢选择使用 PowerClean[®] Pro DNA Clean-Up Kit!



疑难点

DNA 处理量

本试剂盒设计每样处理最多 100 μ l DNA (最多 20 μ g)。

若 DNA 扩增失败

请同时使用电泳凝胶和分光光度法检测 DNA 浓度。DNA 模板浓度、反应条件、酶活性和目标序列的拷贝数都影响 PCR 扩增。

洗脱的 DNA 样品呈棕色

我们尚未观察到使用 PowerClean® Pro DNA Clean-Up Kit 纯化的 DNA 出现任何颜色。若你观察到样品出现颜色异常，请联系技术部获取帮助。

DNA 浓缩

根据起始样品，最终洗脱的 DNA 溶液最多为 100 μ l。要浓缩 DNA，可加入 10 分之一体积的 5 μ l 5M NaCl，上下颠倒 3-5 次。然后加入 200 μ l 凉的 100%乙醇，上下颠倒 3-5 次混匀。 -20 $^{\circ}$ C 孵育 20min，再室温 16000g 离心 20min，弃去所有液体。用真空离心蒸发器、干燥器或冷干机除去残余乙醇。用灭菌水或 MD5 溶液 (10mM Tris) 重悬 DNA 沉淀。

电泳点样时 DNA 溢出

最终 DNA 中有 Solutin DC4 残留导致。为避免此情况发生，注意不要溅到任何冲洗缓冲液到离心柱。酒精浓缩法是去除残余 Solution DC4 的最佳办法(见“DNA 浓缩”步骤操作)。

DNA 保存

洗脱到 DC5 (10mM Tris) 的 DNA 必须保存在 -20 $^{\circ}$ C ~ -80 $^{\circ}$ C 防止降解。DNA 可以用 TE 洗脱，但 EDTA 会抑制 PCR 扩增并影响自动化测序。DNA 也可以用无菌 DNA-Free PCR 级水 (MOBIO 货号: 17000-10) 洗脱。

浏览安必胜网站获取MOBIO技术部最新的技术文章: <http://www.anbiosci.com/MBweibo/blog.htm>