

Dyne PCR Purification Kit Ver.2

Cat. No.	용량	농도
DYK1160	50 prep	
DYK1162	200 prep	

◆ 제품구성

Buffer PB
Buffer NW
Buffer EB

◆ 보관방법

· 상온 (15~25°C)에서 1년간 보관 가능

◆ 제품특징

- Standard sample size : 100 µl of PCR reaction
- Column binding capacity : approx. 10 µg plasmid DNA
- Minimum elution volume : ~40 µl
- Preparation time : <15 min

◆ 제품설명

· Dyne PCR Purification Kit Ver.2는 PCR 혼합물에서 증폭된 DNA를 빠르게 정제할 수 있다. 본 제품은 PCR 반응 후 남은 primer, dimer, enzyme, 잔여 nucleotide, mineral oil 등의 PCR 부산물들을 효과적으로 제거할 수 있다. 정제된 PCR 산물은 제한효소 절단, Vector로의 ligation, labeling, sequencing등의 실험에 완벽하게 호환 가능하다. 본 제품은 다양한 효소반응 후 정제 시 유기용매 추출 및 에탄올 침전의 대안으로 사용할 수 있다.

◆ 표준반응조건

Before experiment

- 사용 전 Buffer NW에 100% Ethanol을 첨가한다.
- 모든 centrifuge step은 13,000 rpm으로 진행한다.

본 protocol은 PCR, 효소 반응의 ss/dsDNA fragment를 정제하기 위한 방법이다. Fragment 범위는 100 bp - 1 kb 사이의 산물을 정제할 수 있다.

1. **Buffer PB**를 PCR reaction의 **5 volume**만큼 첨가한 후 완전히 섞어준다.
예) PCR product 50 µl + Buffer PB 250 µl
2. 혼합액을 Binding column으로 옮긴다.
3. 1분간 원심분리한다. Down된 용액을 버리고 동일 tube에 binding column을 꽂는다.
4. **Buffer NW 500 µl**를 첨가하고 1분간 원심분리한다.
이 단계는 Binding column에 있는 염과 불순물을 제거하기 위함이다. DNA 손실률은 무시할 수 있을 정도이다.

5. Down된 용액을 버리고 동일 tube에 binding column을 꽂는다.

6. **Buffer NW 200 µl**를 첨가하여 4-5번의 washing 단계를 반복한다.

7. Binding column tube를 2분간 원심분리하여 dry시킨다. Column에 맺히는 방울이 없게 Buffer NW를 완전히 제거한다. 잔여 Buffer NW는 이후의 효소 반응을 방해할 수 있다.

8. Binding column을 새 1.5 ml tube에 꽂는다.

9. **Buffer EB 40 µl**를 column filter 중앙에 오도록 첨가한 후 상온에서 1분간 세워두고 그 후 1분간 원심분리한다.

*더 높은 농도의 DNA solution을 얻고 싶으면 Buffer EB 30 µl로 elution을 진행해도 된다. 그러나 30 µl보다 낮은 volume으로 진행할 시 수율이 급격히 낮아질 수 있다. 200 µl까지의 elution buffer를 사용할 수 있으나, 이는 DNA 농도를 낮출 수 있다. 큰 사이즈의 (>5kb) fragment를 이용할 시 Buffer EB를 60°C에서 예열한 후 사용한다.