

PCR-Aufreinigungs-Kit

Protokoll zur Reinigung von einzel- und doppelsträngigen DNA-Fragmenten aus bis zu 100 µL PCR-Probe

Alle Zentrifugationsschritte zwischen 10.000 und 13.000 rpm.

1. Präparation Waschpuffer 1.5:

Kit	Puffer 1.5 [mL]	Zugabe Isopropanol [mL]	Endvolumen Waschpuffer [mL]
4	1,2	0,8	2
50	15	10	25

2. Präparation Waschpuffer 2.2:

Kit	Puffer 2.2 [mL]	Zugabe Ethanol (96- bis 100 Vol-%) [mL]	Endvolumen Waschpuffer [mL]
4	0,56	2,24	2,8
50	7	28	35

3. Zugabe von 5 Volumina Waschpuffer 1.5 (wie oben präpariert) zu 1 Volumen PCR-Probe in einem 1,5-mL-Microtube; anschließend schütteln
4. Zentrifugationssäule in 2-mL-Receiveertube stellen
5. Zur Bindung der DNA Probe auf die Säule geben und 30 – 60 s zentrifugieren
6. Durchfluß aus Receiveertube werfen und Säule erneut in dasselbe Receiveertube stellen
7. 0,7 mL Waschpuffer 2.2 (wie oben präpariert) auf Säule geben und 30 – 60 s zentrifugieren
8. Durchfluß werfen und erneut 1 min trocken zentrifugieren
9. Säule in ein sauberes 1,5-mL-Receiveertube stellen
10. Zur Elution der DNA 50 µL Puffer 3.2 auf Säule geben und 1 min zentrifugieren