

PCR 产物纯化的方法

在 PCR 扩增完成后，反应体系中除了 DNA 片段，还存在离子、dNTP、引物及聚合酶等物质，这些物质会对后续的实验（克隆、测序等）产生不利的影响，需要对产物进行纯化回收。回收 DNA 片段有两种途径，即直接回收和从凝胶中回收，每种纯化途径都有相对应的试剂盒。

产物直接纯化

在 PCR 扩增完成后进行琼脂糖凝胶电泳检测，在条带单一无其他杂带的情况下，可以用产物纯化试剂盒对 PCR 扩增产物直接进行纯化。目前市面上的产物纯化试剂盒大多是利用吸附柱的方法，其实实验过程为“吸附-洗杂-洗脱”：将 PCR 产物置于 DNA 纯化柱中，产物中 DNA 片段会吸附于 DNA 纯化柱上，利用 wash buffer 通过一系列快速漂洗-离心的步骤，将引物、核苷酸、蛋白、酶等杂质去除（洗杂需重复多次以尽可能的洗去杂质，提高产物纯度），最后用洗脱液将 DNA 片段洗脱。

凝胶回收纯化

如果电泳检测结果存在非特异性条带，则需要通过切胶将目的条带分离出来，随后利用胶回收试剂盒对凝胶回收纯化。凝胶回收纯化与产物直接纯化相比多了一个溶胶的过程，两者纯化原理基本相同。

产物直接纯化与凝胶回收纯化区别

产物直接纯化的回收率比胶回收高，但只适用于电泳结果为单一条带的情况。凝胶回收纯化需要先跑胶然后将目的条带切胶回收，纯化产物更纯净。

注意事项

- 纯化前后都需要进行电泳检测，纯化前电泳目的是验证是否存在目的基因及是否存在非特异性结果，纯化后电泳目的是为了验证是否纯化得到目的基因及计算产物的回收率；
- 不同纯化试剂盒适用的 DNA 片段长度会有所不同，购买前建议先仔细阅读说明书。用不适合的试剂盒会影响最终的回收率，甚至无法纯化得到目的 DNA；
- 切胶需在长波长的 UV 灯（紫外灯）下操作，并且快速操作，避免损伤 DNA；
- 如果 PCR 的扩增模板为质粒，需要用切胶回收的方式进行纯化；
- 试剂盒中结合液含有刺激性化合物，操作时要带乳胶手套，避免沾染皮肤、衣服和眼睛；

如何提高回收率？

PCR 产物纯化回收有两个重要的技术指标：纯度和回收率。回收率不理想会使工作量大大的增加，下面就介绍一些能够提高产物回收率的小技巧：

- 洗脱液提前在水浴锅中 50-60°C 预热，同时多次洗脱液可以提高回收率；
- 一些 PCR 产物中可能存在石蜡油，石蜡油会导致回收率降低，因此建议清除石蜡油；
- 使用新配的 TAE Buffer 作为电泳缓冲液，TBE Buffer 或反复使用的 TAE Buffer 都将影响 DNA 的回收率；
- 在电泳时上样孔尽量加满，这样可以在后续切胶过程减少回收胶的重量；
- 切下带有目的条带的胶块体积越小越好；
- 切胶后利用胶回收试剂盒回收，凝胶溶解要充分，溶完胶后稍凉一下再上柱，高温条件下 DNA 不易与柱结合；

相关阅读

[PCR 模板的制备](#)

[DNA 聚合酶的选择](#)

更多优质服务推荐

1

SingleB® mAb Discovery Service

SingleB®单B细胞快速单抗发现

德泰生物提供SingleB®单B细胞快速单抗发现服务,利用SmartFlow® FACS记忆B细胞筛选平台与DeepLight®浆细胞筛选平台,实现记忆B细胞与浆细胞的双筛选。平台适用于小鼠、兔、羊驼、人源化小鼠、绵羊等多种免疫对象,从动物免疫到获得单抗,快至29天,比传统杂交瘤技术至少节省120天。

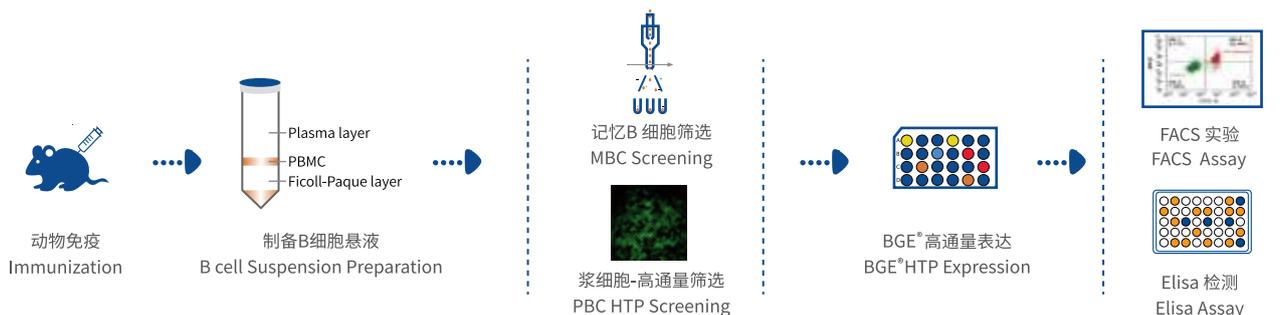
平台优势

- 支持蛋白、多肽、细胞、病毒等多种类型抗原免疫
- 记忆B细胞 & 浆细胞双筛选,保证B细胞多样性
- 单细胞扩增阳性率高,无需刺激培养,减少多样性损失
- 重轻链天然配对,亲和力更优
- 高通量,周期短,单抗发现快至29天
- ELISA、FACS、WB、IHC等多平台验证

可开发单抗物种



服务流程





Recombinant Antibody Expression Service

重组抗体表达

德泰生物拥有完善的重组抗体表达与纯化体系、抗体多工艺质量验证体系。已交付的重组抗体项目种类包括scFv、Fab、(Fab')₂、VHH、嵌合抗体、双特异性抗体、Fc融合蛋白、全长IgG、IgM。cGMP标准的百级洁净细胞房及生物反应器用于HEK293/CHO细胞的小试及大量培养。HPLC纯度、内毒素、浓度等要求均可以根据您的下游应用进行定制。

服务优势



服务流程

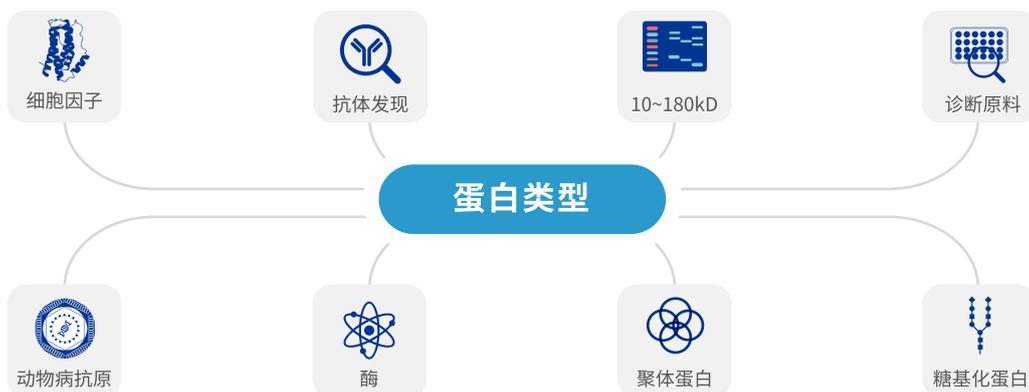


Recombinant Protein Expression Service

重组蛋白表达

原核蛋白表达系统、哺乳动物细胞蛋白表达系统

德泰生物拥有完善的原核蛋白表达与纯化体系和哺乳动物细胞蛋白表达与纯化体系。基于细胞因子、酶、诊断原料蛋白的工业化需求，我们配备了发酵设备并推出了大规模发酵制备服务；我们还配备了cGMP标准的百级洁净细胞房及生物反应器，用于HEK293/CHO等真核细胞的小试及大量培养。



4

Hybridoma Antibody Gene Sequencing Service

杂交瘤抗体基因测序

德泰生物拥有mRNA全长测序平台和Failsafe®假基因排除技术,能够提供快速、可靠的杂交瘤抗体基因测序服务。

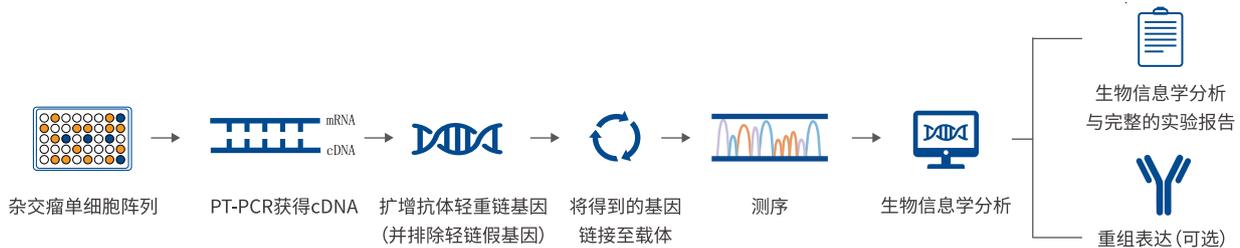
应用场景

- 抗体序列保护:获取抗体基因序列后可通过专利对CDR区进行保护。
- 生产方式备份:杂交瘤存在退化转阴风险,抗体序列可通过基因工程方式轻松转化为抗体样品。
- 抗体工程改造:获得的抗体序列可用于抗体人源化、双特异性抗体等抗体工程改造。

服务优势

- 极速体验:测序5天,表达5天,全程高通量
- 细胞需求少:只需1~5个细胞,可以接收孔板样品
- 保证测序结果准确:采用Failsafe®假基因排除技术,可排除κ轻链假基因
- 测序范围广:可测小鼠、大鼠、兔、羊等物种的IgM和IgG的所有亚型
- 一站式服务:德泰生物拥有丰富经验,可提供表达验证服务

服务流程



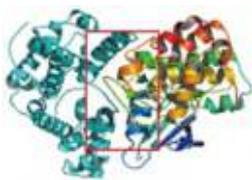
5

Biomolecular Interaction Analysis Service

分子间相互作用检测

德泰生物提供的分子间相互作用检测服务基于表面等离子共振 (SPR) 平台及生物膜干涉技术 (BLI) 平台,能够实现对分子间亲和力的定量和定性分析。与传统的GST pull down, 免疫共沉淀, 酵母双杂交等相比, 具有更高的灵敏度、检测通量及较低的样品要求等优点。

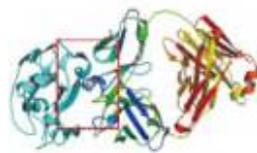
检测范围



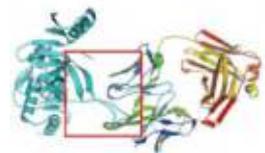
蛋白和蛋白



蛋白和小分子



蛋白和抗体



蛋白和抗体Fab片段

检测范围包括蛋白-蛋白、抗体-抗原、抗体片段-抗原、蛋白-抗体、蛋白-小分子、抗体-多肽、蛋白-DNA、DNA-DNA间的相互作用。

6

Antibody Humanization Service

抗体人源化

德泰生物人源化改造服务基于人工智能之深度学习算法,通过构建抗体结构模型、CDR移植与回复突变、识别关键氨基酸及人源化运算,获得人源化程度高且突变能低的抗体序列。

服务优势



重链和轻链同时参与优化



改造后的抗体人源化程度>90%



人源化抗体的亲和力与初始抗体相当



可进行多物种的抗体人源化

服务流程

- 1 Antibody sequence confirmation
- 2 Human germline acceptor selection
- 3 CDR grafting
- 4 Back mutation
- 5 Mutation energy ranking
- 6 Antibody expression
- 7 Affinity ranking

7

Stable Cell Line Development Service

生产型稳转细胞株构建

德泰生物提供高表达哺乳动物稳定细胞株构建服务,筛选过程使用先进的可视化DeepLight®单克隆细胞筛选平台,较传统筛选流程快近100天,大大缩短了稳定细胞株的开发周期。

DeepLight®细胞筛选平台的优势

	有限稀释法筛选	DeepLight® On-chip筛选
筛选时间	8周	1天
细胞分离效率	低	高
筛选通量	低	高
单细胞水平筛选	否	是

服务流程



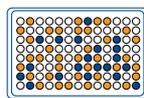
基因合成&质粒抽提



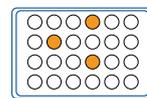
稳定转染



On-chip筛选



压力筛选



扩大培养



交付单克隆细胞株

服务优势



更快的筛选速度

从DNA到细胞株
较传统方法快近100天



百k级筛选通量

一次筛选640k细胞
优选高表达细胞株



可视化筛选结果

先进DeepLight®平台
高表达细胞株实时成像



稳定高产

可稳定转代50代
重组单抗可达5 g/L