

版本号: DP130516

# TIANquick Midi Purification Kit

## 普通DNA产物纯化试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP204

### 产品内容

产品组成	DP204-01 (20 preps)
平衡液BL (Buffer BL)	15 ml
结合液PB (Buffer PB)	15 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml
洗脱缓冲液EB (Buffer EB)	15 ml
吸附柱CB2 (Spin Columns CB2)	20个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	20个

### 储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8°C。2-8°C 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37°C 水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

---

## 产品简介

本试剂盒采用独特的离心吸附柱纯化酶切、PCR等反应溶液中的DNA片段，同时除去蛋白质、其它有机化合物、无机盐离子及寡核苷酸引物等杂质，回收100 bp-10 kb DNA片段，回收率可达80%以上，每个离心吸附柱每次可吸附的DNA量为10 µg。

使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、文库筛选、连接和转化等实验。

## 产品特点

**快速：**整个操作过程只需十几分钟，节省时间。

**多样：**可以回收单链、双链DNA片段以及环状质粒DNA。

**高效：**独特的离心柱和精心配制的缓冲液保证每次最大量回收到高纯度目的DNA。

## 注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 本试剂盒适用于无选择性的回收溶液中所有DNA片段，如需选择性回收特定片段，同时去除其他不同大小片段，请选择胶回收试剂盒。
  2. 洗脱缓冲液加量应根据回收前DNA量来决定：如回收前DNA只有1-5 µg左右，则应选用超薄型离心柱，加20-50 µl洗脱缓冲液；如回收前有5-20 µg左右DNA，则应选用普通型离心柱，加30-100 µl洗脱缓冲液；如回收前有20-30 µg左右DNA，则应选用大量型离心柱，加50-300 µl洗脱缓冲液。
  3. 回收率与初始DNA量和洗脱体积有关，初始量越少、洗脱体积越少，回收率越低。
  4. 所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。
  5. 对于<100 bp 和>10 kb的DNA片段可以适当的增加吸附和洗脱的时间。
  6. 平衡液BL的加入能够改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性，消除高温/潮湿或其他不良环境因素对吸附柱造成的影响。使用前请先检查平衡液BL是否出现浑浊，如有混浊现象，可在37°C水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。
  7. 用平衡液处理过的柱子最好当天使用，放置时间过长会影响效果。
-

---

## 操作步骤

使用前请先在漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 柱平衡步骤：向吸附柱CB2中（吸附柱放入收集管中）加入500  $\mu\text{l}$ 的平衡液BL，12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ) 离心1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB2重新放回收集管中。

（请使用当天处理过的柱子）

2. 估计PCR反应液或酶切反应液的体积，向其中加入5倍体积的结合液PB，充分混匀（无需去除石蜡油或矿物油）。

**注意：**如PCR反应体系为50  $\mu\text{l}$ （不包括石蜡油体积），则加入250  $\mu\text{l}$ 结合液PB。

3. 将上一步所得溶液加入一个吸附柱CB2中（吸附柱放入收集管中），室温放置2 min，12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB2放入收集管中。

**注意：**吸附柱容积为800  $\mu\text{l}$ ，若样品体积大于800  $\mu\text{l}$ 可分批加入。

4. 向吸附柱CB2中加入600  $\mu\text{l}$ 漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB2放入收集管中。

**注意：**如果纯化的DNA是用于盐敏感的实验，例如平末端连接实验或直接测序，建议PW加入后静置2-5 min再离心。

5. 重复操作步骤4。

6. 将吸附柱CB2放回收集管中，12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心2 min，尽量除去漂洗液。将吸附柱CB2置于室温放置数分钟，彻底地晾干，以防止残留的漂洗液影响下一步的实验。

**注意：**漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

---

---

7. 将吸附柱CB2放入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加30-50  $\mu\text{l}$ 洗脱缓冲液EB，室温放置2 min。12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心2 min收集DNA溶液。

**注意：**洗脱液的体积不应少于30  $\mu\text{l}$ ，体积过少会影响回收的效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若后续做测序，需使用ddH<sub>2</sub>O做洗脱液，并保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}\text{C}$ ，以防DNA降解。DNA也可以用缓冲液(10 mM Tris-Cl, pH8.0)洗脱。为了提高DNA的回收量，可将离心得到的溶液重新加回离心吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ )离心2 min，将DNA溶液收集到离心管中。

## DNA浓度及纯度检测

回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD<sub>260</sub>处有显著吸收峰，OD<sub>260</sub>值为1相当于大约50  $\mu\text{g/ml}$ 双链DNA、40  $\mu\text{g/ml}$ 单链DNA。

OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用ddH<sub>2</sub>O，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

---