

版本号: DP160504

TIANquick N96 Purification Kit

N96 DNA产物纯化试剂盒

(离心板型)

目录号: DP213

产品内容

产品组成	DP213-01 (4 plates)	DP213-02 (24 plates)
平衡液BL (Buffer BL)	240 ml	3 × 500 ml
结合液PB (Buffer PB)	240 ml	3 × 500 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	3 × 50 ml	2 × 500 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	60 ml	240 ml
96孔吸附板CB2 (N96 Plate CB2(H))	4板	24板
96孔深孔板 (N96 Well Plate)	8板	48板
250 ml试剂瓶	--	1个
封口膜 (Plate Cover)	4张	24张

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吸附柱纯化酶切、PCR等反应溶液中的DNA片段。可除去蛋白质、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-3.5 kb DNA片段，回收率可达80%以上。每孔最多可吸附的DNA量为5 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：整个操作过程只需几十分钟，最大限度节省时间。

高效：独特的吸附板和精心配制的缓冲液保证每次最大量回收到高纯度的目的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（可去除30 bp以下的小片段），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. 回收得率与DNA初始量及洗脱体积有关。DNA初始量越低，洗脱体积越少，回收得率越低。洗脱体积最好不要少于每孔60 µl。
 3. 每次使用前取50 ml漂洗液PW并加入200 ml无水乙醇摇匀后使用。
 4. 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。实验前使用平衡液处理吸附柱，可以最大限度激活硅基质膜，提高得率。
 5. 实验前使用平衡液BL处理吸附板，可以最大限度激活硅基质膜，提高得率。
 6. 用平衡液BL处理过的板子最好当天使用，放置时间过长会影响效果。
-

操作步骤：用户可以选择离心法或负压法。

离心法

1. 板平衡步骤：将96孔吸附板CB2叠放在96孔深孔板上，每孔中加入500 μl 的平衡液BL，3,600 rpm($\sim 2,130 \times g$)离心3 min，弃废液，将吸附板重新放回深孔板上。(请使用当天处理过的吸附板)

2. 估计PCR反应液或酶切反应液的体积，向其中加入3倍体积的结合液PB。

举例：如PCR反应体系为100 μl (不包括石蜡油体积)，则加入300 μl 结合液PB。如果混合液体积超过PCR管的体积，可将PCR反应液或者酶切反应液转移到96孔深孔板中，与结合液PB进行混合再进行下游实验。

3. 充分混匀后转移所有上述混合液到第一步平衡过的96孔吸附板CB2中。室温放置2 min，3,600 rpm($\sim 2,130 \times g$)离心5 min，弃废液，将吸附板重新放回同一深孔板中。

注意：单孔吸附柱容量为700 μl ，若样品体积大于700 μl 可分批加入离心。

4. 向96孔吸附板CB2每孔中加入700 μl 漂洗液PW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，3,600 rpm($\sim 2,130 \times g$)离心3 min，弃废液，将吸附板重新放回同一深孔板中。

5. 重复操作步骤4。

6. 3,600 rpm($\sim 2,130 \times g$)离心10 min，目的是将吸附板中残余的漂洗液去除。

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96孔吸附板CB2置于一个新的96孔深孔板中，向吸附板各孔膜的中间部位悬空滴加80-100 μl ddH₂O (pH ≥ 7.5)或洗脱缓冲液TB，室温放置5 min，3,600 rpm ($\sim 2,130 \times g$)离心10 min收集DNA溶液。

注意：通常80 μl 的洗脱液平均洗脱得到50 μl 的DNA产物。为提高得率，可以增加洗脱液体积。此外，若用ddH₂O洗脱应保证其pH值在7.0-8.5范围内。

负压法

1. 正确连接负压装置，将96孔吸附板CB2置于负压装置上；向96孔吸附板CB2每孔中添加200 μ l平衡液 BL，开启并调节负压，吸尽板中溶液。
2. 在PCR、酶切、酶标或测序反应液中，加3倍体积的PB；混合均匀后转移到平衡过的96孔吸附板CB2中，室温放置2 min，开启并调节负压吸尽板中溶液。
3. 向96孔吸附板CB2中每孔添加200 μ l漂洗液PW，吸尽板中溶液。
4. 重复第3步骤。
5. 以最大负压将96孔吸附板CB2抽吸10 min。

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。

6. 导流管朝下将96孔吸附板CB2于吸水纸上用力拍击6次。
7. 将96孔吸附板CB2置于96孔深孔板上，在膜正中央加80-100 μ l ddH₂O（pH \geq 7.5）或洗脱缓冲液 TB，室温静置5 min。3,600 rpm离心10 min收集DNA溶液。
8. 在该96孔深孔板上覆盖一张新的封口膜，DNA溶液保存于-20 $^{\circ}$ C备用。

DNA浓度及纯度检测

DNA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OD₂₆₀处有显著吸收峰，OD₂₆₀值为1相当于大约50 μ g/ml双链DNA、40 μ g/ml单链DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用ddH₂O，比值会偏低，但并不表示纯度低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值。
